



Deteção e identificação de compostos químicos resultantes da queima de produtos contendo canabinóides sintéticos

Rosa Maria Miranda Correia Matos

Dissertação do 2º ciclo de estudos conducente ao grau de mestre em Controlo de
Qualidade

Trabalho realizado sob a orientação de:

Doutora Maria Paula do Amaral Alegria Guedes de Pinho

Professor Doutor Félix Dias Carvalho

Outubro, 2016

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA
EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO,
QUE A TAL SE COMPROMETE

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostava de agradecer toda a ajuda, paciência, disponibilidade e tempo despendido da parte da Doutora Maria Paula Amaral Alegria Guedes de Pinho. A sua contribuição foi essencial para o desenvolvimento e finalização de todos os componentes desta dissertação que apresento.

Gostaria de agradecer ao Professor Doutor Félix Dias de Carvalho pelo apoio cedido enquanto coordenador do Mestrado em Controlo de Qualidade quando exprimi o meu interesse por estes compostos. Adicionalmente, os seus conselhos e supervisão foram igualmente essenciais.

Deixo uma palavra de agradecimento à Mestre Ana Margarida Carvalho Araújo pelo acompanhamento e ajuda no melhoramento das minhas competências.

Também uma palavra de agradecimento aos colegas do laboratório de Toxicologia, do departamento de Ciências Biológicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, por serem extremamente prestáveis e terem sempre uma palavra amiga para qualquer situação.

À Professora Doutora Maria Beatriz Prior Pinto de Oliveira, atual coordenadora do Mestrado em Controlo de Qualidade, um obrigada pela disponibilidade e prontidão em ajudar e facilitar em todo o processo.

Aos meus amigos, especialmente o Carlos Filipe, pelo carinho e apoio durante estas múltiplas jornadas, bem como o seu precioso olho crítico. Pelos cafés e jantares, obrigada por serem meus amigos.

Por fim, à minha família. Foi difícil e duro chegar até aqui, mas sem vocês, nada do que está aqui feito seria possível. Obrigada pelo apoio, motivação e ensinamentos. Por estarem sempre lá em todos os momentos.

Este estudo foi desenvolvido no âmbito do projeto financiado pela União Europeia (POCI/01/0145/FEDER/007728) e pelo Estado Português através da Fundação para a Ciência e Tecnologia e o Ministério da Educação e Ciência (PT2020 UID/MULTI/04378/2013), através do projeto NORTE-01-0145-FEDER-000024, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE 2020), através da parceria Portugal 2020 (DESIGNBIOTECHealth - New Technologies for three Health Challenges of Modern Societies: Diabetes, Drug Abuse and Kidney Diseases) e do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

ABSTRACT

Synthetic cannabinoids (SCB) are cannabinoid receptor agonists widely used as recreational drugs for their psychotropic effects. Nevertheless, medical reports and scientific publications refer that the effects are more potent and effective than those obtained from natural cannabinoids, and can cause non-desirable effects, making its consumption a reason for concern. Moreover, most SCB users are not aware of some of the severity of effects that can come up with prolonged consumption. Consumers of these drugs obtain them easily on the internet, not knowing exactly what they are consuming.

Another concern is that, when these substances are smoked, the products of combustion are also inhaled. Therefore, the potential psychoactive effects and even the associated toxicity may be also due to pyrolysis products. Also, since there is no description of what is inside the package, the mixture combination could possibly be the cause of some of the most severe reactions.

With this dissertation, we intended to understand the content of traded packages containing SCB and identify the chemical products inhaled when smoked. This will give a better overview of the composition of these commercial products containing SCB and the products formed after their combustion, as also their potential advertised effects.

The obtained results indicate that not all psychoactive and toxic effects are originated from the SCB. In fact, it was found that plasticizers from the packaging migrated to the herbal mixture and are highly toxic. Also, the same herbal mixture can provide some of the desirable effects, even though the plants that constitute the mixture couldn't be identified. Biological effects of most pyrolysis products obtained from SCB are still undefined, but safety issues were identified in the literature for some of them.

It can be concluded that the of burning during smoking of SCB products may lead to the formation of new compounds with high toxic potential, whose effects in the inhaled volatile mixture are still unpredictable at the present stage.

Keywords: Synthetic Cannabinoids, pyrolysis products, psychoactive effects, toxicology.

RESUMO

Canabinóides sintéticos (CBS) são agonistas dos recetores canabinóides amplamente usados como drogas recreativas pelos seus efeitos psicotrópicos. Todavia, relatórios médicos e alguns artigos científicos referem que os efeitos são mais potentes e eficazes do que o dos canabinóides naturais, e ainda podem causar efeitos não desejáveis, fazendo do seu consumo um perigo. Além disso, os utilizadores de CBS não estão cientes da severidade de alguns dos efeitos que podem ocorrer com o seu consumo prolongado. Os consumidores destas drogas conseguem obtê-las facilmente pela internet, sem saber exatamente o que estão a consumir.

Outra preocupação é que, quando se fumam estas substâncias, os produtos de combustão que são formados também serão consumidos. Os efeitos psicoativos e mesmo a toxicidade associada podem ser também consequência da inalação desses produtos. Além disso, como não há nenhuma descrição do que está dentro do pacote, a combinação de todos os constituintes poderia ser a causa de algumas das reações mais graves.

Com esta dissertação, pretende-se determinar o conteúdo dos produtos comerciais e identificar o que está a ser inalado quando fumado. Isto dará uma visão geral da composição destes produtos comerciais que contêm SC e dos produtos formados após a sua combustão, como também dos seus potenciais efeitos.

Os resultados obtidos indicam que nem todos os efeitos psicoativos e tóxicos têm origem nos CBS. De facto, descobriu-se que os plastificantes da embalagem migraram para a mistura de ervas e são extremamente tóxicos. Além do mais, a mesma mistura de ervas pode fornecer alguns dos efeitos desejáveis, apesar dos constituintes das plantas não terem sido identificados. Os efeitos biológicos da maioria dos produtos pirolisados obtidos dos canabinóides sintéticos ainda não estão identificados, mas para alguns foram reconhecidos alguns riscos de segurança.

Pode-se concluir que a queima durante o ato de fumar estes produtos contendo CBS pode levar à formação de novos compostos com um elevado potencial tóxico, cujos efeitos na mistura volátil inalada são ainda imprevisíveis nesta fase atual.

Palavras-chave: Canabinóides sintéticos, produtos da pirólise, efeitos psicoativos, toxicologia.

ÍNDICE

Agradecimentos	iii
Abstract	v
Resumo	vi
Lista de abreviaturas e símbolos	X
Índice de tabelas	xii
Índice de figuras e gráficos	xv
Capítulo 1 - Introdução	1
Introdução às novas substâncias psicoativas	2
1. Canabinóides sintéticos	5
1.1. Utilização e consumo	5
1.2. Composição	6
Canabinóides sintéticos	7
1. Propriedades Físico Químicas	7
2. Farmacologia	11
2.1. Farmacodinâmica	11
2.2. Farmacocinética	12
3. Toxicologia	16
3.1. De onde vêm?	16
3.2. Efeitos desejados e adversos	17
3.3. Severidade da intoxicação	19
3.4. Tolerância e abstinência	20

3.5. Tratamento da intoxicação	21
4. Análise de amostras	23
4.1. Preparação da matriz	23
4.1.1. Amostra do produto comercial	24
4.2. Métodos de análise	24
4.2.1. Cromatografia gasosa (GC)	25
4.2.2. Cromatografia líquida (LC)	25
4.2.3. Ressonância magnética nuclear (NMR) e espectroscopia no infravermelho (IF)	26
4.2.4. Espectrometria de massa (MS)	26
4.2.4.1. Técnicas de ionização de espectrometria de massa	27
Âmbito e objetivos da dissertação	28
Capítulo 2 – Materiais e métodos	29
1. Materials	30
1.1. Amostras comerciais	30
1.2. Equipamento e reagentes	32
2. Métodos	33
2.1. Preparação das amostras	33
2.2. Condições do GC-MS	34
2.3. Técnica de “blazing”	34
Capítulo 3 - Resultados	36
1. Análise os extratos metanólicos das amostras comerciais filtradas antes da pirólise por GC-MS	37
2. Análise das amostras após a pirólise de 10 minutos	45

2.1. Simulação das quebras da molécula para determinação de produtos da pirólise	53
2.2. Ressuspensão dos compostos voláteis com diferentes solventes	65
2.3. Cinética da pirólise das amostras comerciais	66
Capítulo 4 – Discussão e conclusão	69
Conclusão e perspectivas futuras	77
Referências bibliográficas	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AM - Alexandros Markryannis

APCI – Ionização química à pressão atmosférica

CB – Canabinóide

CBS – Canabinóide(s) sintético(s)

CBR – Recetor canabinóide

CP – Ciclohexilfenol

DART - Análise direta em tempo real

DMT – Dimetiltryptamina

ESI - Ionização por “eletrospray”

EU – União Europeia

GC – Cromatografia gasosa

HU - Universidade Hebraica

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P.

IR – Espectroscopia no infravermelho

JWH - John W. Huffman

LC – Cromatografia líquida

LLE - Extração líquido-líquido

LSD – Dietilamida do ácido lisérgico

MALDI – Ionização e dessorção a laser assistida por matriz

MDMA – 3,4-Metilenodioximetanfetamina

MRM - Monitorização de reações múltiplas

MS - Espectrometria de massa

NMR – Ressonância magnética nuclear

NPS – Novas substâncias psicoativas

PCP – Fenilciclidina

SALLE - LLE por “salting-out”

SCB – Synthetic cannabinoid

SLE - Extração de líquido apoiado

SIDA - Síndrome da imunodeficiência adquirida

SIM - Monitorização seletiva de iões

SNC – Sistema nervoso central

SPE - Extração em fase sólida

THC - Tetrahydrocannabinol

TLC – Cromatografia de camada fina

TMCP – 2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonilo

UR - Laboratórios Abbot

XLR-11 - 5"-fluoro-UR-144, nome dado em honra do Primeiro motor de combustível líquido de foguete desenvolvido nos Estados Unidos da América

WIN – Farmacêutica Sterling Winthrop

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classes de agentes clássicos e os seus respetivos agentes sintéticos e efeitos causados (2).	3
Tabela 2: Classes de CBS (3,12,13). Os exemplos sublinhados correspondem às estruturas representadas.	7
Tabela 3: Metabolitos e metabolização de alguns CBS (4).	13
Tabela 4: Descrição dos efeitos dos CBS (2,3,8,10,11,13,16,18,21,33,34,36).	17
Tabela 5: Compostos químicos, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , no extrato metanólico da amostra comercial “Caramba” filtrada.	38
Tabela 6: Compostos químicos, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , no extrato metanólico da amostra comercial “Esfinge” filtrada.	40
Tabela 7: Compostos químicos, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , no extrato metanólico da amostra comercial “Magic” filtrada.	42
Tabela 8: Compostos químicos, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , no extrato metanólico da amostra comercial “Mandala” filtrada.	44
Tabela 9: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Caramba”, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , encontrados igualmente na amostra filtrada.	46
Tabela 10: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Esfinge”, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , encontrados igualmente na amostra filtrada.	48
Tabela 11: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Magic”, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , encontrados igualmente na amostra filtrada.	50

Tabela 12: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Mandala”, identificados pela biblioteca <i>swgdrug</i> , encontrados igualmente na amostra filtrada.	52
Tabela 13: Estruturas moleculares resultantes e respectivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-018 N-3-metilbutil isómero.	55
Tabela 14: Possíveis produtos da pirólise de JWH-018 N-3-metilbutil isómero.	56
Tabela 15: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero e os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.	57
Tabela 16: Estruturas moleculares resultantes e respectivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-122 6-metilnaftil isómero.	56
Tabela 17: Possíveis produtos da pirólise de JWH-122 6-metilnaftil isómero.	59
Tabela 18: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS JWH-122 6-metilnaftil isómero e os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.	60
Tabela 19: Estruturas moleculares resultantes e respectivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-210 3-etilnaftil isómero.	61
Tabela 20: Possíveis produtos da pirólise de JWH-210 3-etilnaftil isómero.	62
Tabela 21: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS JWH-210 3-etilnaftil isómero e os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.	63
Tabela 22: Estruturas moleculares resultantes e respectivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero.	64

Tabela 23: Possíveis produtos da pirólise de MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero.	65
Tabela 24: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero e os m/z encontrados na análise da amostra comercial.	65
Tabela 25: Áreas dos picos cromatográficos dos compostos voláteis dos CBS resultantes da pirólise da amostra comercial “Mandala” durante: 1) 0 minutos; 2) 10 minutos; 20 minutos; 3) 30 minutos; 4) 40 minutos; 5) 50 minutos; 6) 60 minutos.	67
Tabela 26: Características psicoativas conhecidas das plantas presentes nas misturas de ervas das amostras comerciais “Caramba” e “Magic”.	70
Tabela 27: Origem, efeitos e toxicidade dos compostos identificados após a pirólise.	71
Tabela 28: Origem, efeitos e toxicidade dos possíveis produtos da pirólise identificados após a pirólise.	74

ÍNDICE DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1: Exemplos das embalagens vendidas com CBS na sua composição.	6
Figura 2: Amostra comercial de incenso “Caramba” com o rótulo.	30
Figura 3: Amostras comerciais de incenso “Esfinge” e “Mandala”.	31
Figura 4: Amostras comerciais de incenso “Magic” com o rótulo.	31
Figura 5: Sistema de vácuo com colunas de SPE contendo os compostos resultantes da pirólise.	32
Figura 6: GC-MS utilizado na análise.	32
Figura 7: Amostras comerciais trituradas.	33
Figura 8: Cinzas resultantes da pirólise.	34
Figura 9: Técnica de “blazing” em funcionamento.	35
Figura 10: Cromatograma do extrato metanólico da amostra comercial “Caramba” filtrada (5 mg de amostra triturada dissolvida em 1 mL de metanol (HPLC Grade)).	37
Figura 11: Cromatograma do extrato metanólico da amostra comercial “Esfinge” filtrada (5 mg de amostra triturada dissolvida em 1 mL de metanol (HPLC Grade)).	39
Figura 12: Cromatograma do extrato metanólico da amostra comercial “Magic” filtrada (5 mg de amostra triturada dissolvida em 1 mL de metanol (HPLC Grade)).	41
Figura 13: Cromatograma do extrato metanólico da amostra comercial “Mandala” filtrada (5 mg de amostra triturada dissolvida em 1 mL de metanol (HPLC Grade)).	43
Figura 14: Cromatogramas do extrato metanólico do resultado da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Caramba”: 1) voláteis; 2) cinzas.	45
Figura 15: Cromatogramas do extrato metanólico do resultado da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Esfinge”: 1) voláteis; 2) cinzas.	47

Figura 16: Cromatogramas do extrato metanólico do resultado da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Magic”: 1) voláteis; 2) cinzas. 49

Figura 17: Cromatogramas do extrato metanólico do resultado da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Mandala”: 1) voláteis; 2) cinzas. 51

Figura 18: Cromatogramas dos voláteis da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Mandala” ressuspensos com: 1) Metanol (HPLC Grade); 2) Éter de petróleo (HPLC Grade); 3) Diclorometano (HPLC Grade); 4) Clorofórmio (HPLC Grade); 5) Acetato de etilo 53

Figura 19: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-018 N-3-metilbutil isómero. 54

Figura 20: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-122 6-metilnaftil isómero. 58

Figura 21: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-210 3-etilnaftil isómero. 61

Figura 22: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero. 64

Figura 23: Cromatogramas dos voláteis resultantes da pirólise da amostra comercial “Mandala” durante: 1) 20 minutos; 2) 30 minutos; 3) 40 minutos; 4) 50 minutos; 5) 60 minutos. 66

Figura 24: Gráfico representativo do comportamento da área dos CBS da amostra comercial “Mandala” com o aumento da duração da pirólise por técnica de “blazing”. 68

Capítulo 1

INTRODUÇÃO ÀS NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS

Nos últimos anos, na Europa, tem-se vindo a verificar um incremento exponencial no mercado de novas substâncias psicoativas (NPS), onde entram produtos vindos da Ásia, África e América do Sul, para além das NPS que já se produzem no espaço europeu. O último “Relatório Europeu sobre Drogas” mostra que houve um aumento de produção de novas substâncias psicoativas bem como do seu consumo (1).

Drogas sintéticas são análogos estruturais ou funcionais de uma substância controlada, o que permite mimetizar os efeitos farmacológicos da droga original. Tendo como base a sua ação farmacológica, dividem-se em quatro categorias diferentes: os psicostimulantes (e.g. catinonas sintéticas, anfetaminas, cocaína), os CBS (mimetizam os efeitos da canábis), os dissociativos, que englobam as benzodiazepinas, a cetamina e os fenilciclídina, e os alucinogénios (e.g. dietilamida do ácido lisérgico e psilocibina). Podem ser encontrados no mercado com diferentes rótulos e supostas aplicações, como sais de banho, pós, comprimidos, tabaco de enrolar, ambientadores, incenso e misturas de ervas e são vendidas *online* ou em lojas especializadas, conhecidas como “smart shops”. Todas elas são vendidas em embalagens muito atrativas e rotuladas, com o nome da substância (nem sempre), posologia em função do efeito desejado, com referências populares que os clientes reconhecem e por vezes com avisos acerca do perigo do seu consumo (2,3).

Existem dois motivos que levam à elevada procura destas substâncias: a) uma vez que são análogos de compostos proibidos, estes são comercializados como alternativas legais, daí serem conhecidas como “drogas legais”, e b) por que são difíceis de encontrar nos testes de rastreio habituais (4). Em Portugal, bem como noutros países, esta realidade é de enorme preocupação para as autoridades competentes, neste sentido foi publicado um decreto-lei (nº 54/2013 de 17 de abril) que define o regime jurídico que controla a comercialização e publicidade destas substâncias, onde na portaria nº 154/2013 de 17 de abril são listadas as novas substâncias psicoativas. Esta legislação veio permitir que se possam colocar em práticas medidas contra a sua produção, distribuição, venda, dispensa, importação e publicidade, tendo tido como consequência imediata o encerramento das “smart shops”. No entanto, a legislação que proíbe as substâncias psicoativas não é totalmente eficaz, porque mesmo com possíveis recorrentes portarias para o decreto-lei que atualizam as novas substâncias que vão aparecendo no mercado, outras facilmente são produzidas que não fazem parte da lista. Para o que é proibido hoje ser novamente legal basta uma pequena

alteração na estrutura química da molécula para se tornar uma substância nova e estar disponível no mercado sem repercussões legais. Torna-se por isso, fulcral a prevenção contra o consumo destas drogas (5–7).

A tabela 1 reúne os efeitos das substâncias psicoativas desejados pelos utilizadores, bem como os seus efeitos adversos (2). Apesar de já se conhecerem alguns efeitos causados pelos CBS, a informação ainda é escassa. Tendo em conta que, de entre as novas drogas psicoativas, os CBS são os mais procurados, estudar e conhecer os seus efeitos farmacológicos e a sua toxicidade com maior profundidade torna-se uma questão fundamental para assegurar a segurança de quem as procura (1).

Tabela 1: Classes de agentes clássicos e os seus respetivos agentes sintéticos e efeitos causados (2).

Classe	Agentes clássicos	Agentes sintéticos	Efeitos desejados	Efeitos adversos
Estimulantes	MDMA Cocaína Anfetamina Metanfetamina	Mefedrona 5-iodo-2-aminoindano 2-aminoindano Benzilpiperazina 6-(2-aminopropil)benzofurano Nafirona Série NBOMe Série 2C	Euforia Desinibição social Extroversão “Moca”	Síndrome da serotonina Sintomas psicóticos Paranoia Agitação Impulsividade Obsessão Sintomas cardiovasculares Hipertermia
Psicadélicos	Psilocibina LSD DMT Mescalina	Bromo-DragonFLY 6-alilo-6-nor-LSD N,N-dialilo-5-metoxitriptamina Série NBOMe Série 2C	Efeitos psicadélicos	Ansiedade
Canabimiméticos	THC	JWH-018 JWH-081 JWH-122 AM-2201 UR-144 XLR-11	Relaxação Analgesia “Moca” Sedação Euforia Ansiólise	Paranoia Ansiedade Sintomas psicóticos Comprometimento cognitivo

				Convulsões (agentes sintéticos)
Benzodiazepinas	Diazepam Aprazolam Lorazepam	Pyrazolam Flubromazepam Phenazepam	Ansiedade Relaxamento muscular Sedação	Depressão respiratória Convulsões após abstinência Vício
Dissociativos	Cetamina PCP	Metoxetamina Difenidina 2-metoxidifenidina 4-metoxifenilciclidina 3-metoxifenilciclidina N-etilcetamina Metoxicetamina	Dissociação Analgesia “Moca” Euforia Leveza	Dor de cabeça Sintomas psicóticos Náusea Tonturas Paranoia Ansiedade Comprometimento cognitivo

1. Canabinóides sintéticos

1.1. Utilização e consumo

Os CBS foram originalmente sintetizados numa tentativa de desenvolver fármacos agonistas dos recetores de canabinóides (CBR). O seu efeito é semelhante ao do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 - THC), um agonista parcial dos CBR presente na marijuana (8). Existem dois agonistas sintéticos do CBR com utilização terapêutica, o Dronabinol e o Nabilone. O Dronabinol (Marinol®) é um isómero *trans* do Δ^9 - THC sintético, enquanto o Nabilone (Cesamet®) é um análogo sintético do Δ^9 – THC (18). Estes são utilizados no tratamento de vômitos e náusea causados pela quimioterapia, com uma eficácia igual ou superior a outras drogas de primeira geração. No entanto, o aparecimento de novas drogas mais eficientes e toleráveis levou a que os CBS perdessem o seu interesse terapêutico. O Dronabinol é também utilizado no tratamento da anorexia causada pela Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) como estimulante do apetite (9).

O produto final da síntese de CB consiste num sólido que é vendido em pacotes ou dissolvido num solvente e pulverizado sobre uma preparação de ervas. Quando é adquirido sob a forma de pó, este é dispersado sobre tabaco, sendo posteriormente enrolado e fumado. Na segunda opção de compra, a substância psicoativa está presente na solução adicionada à preparação de ervas (10). Existe ainda a possibilidade de ser consumida misturada com cânabis ou por infusão da preparação (5). Recentemente, foi documentada a venda em líquido para utilização por cigarro eletrónico (11). A droga é comercializada com nomes apelativos e reconhecíveis pelo público, indo buscar influências à cultura popular (filmes, séries, livros, etc.), como se pode ver na figura 1. Além disso, as embalagens informam o possível comprador de que não é aconselhado o consumo do produto. Por vezes, adiciona-se aromas e corante para mascarar a cor verde ou castanha, de modo a ser semelhante à embalagem ou nome dado. As embalagens normalmente são de alumínio e levam entre 1 a 3 gramas de matéria vegetal seca, onde um ou mais CBS são adicionados, e o seu efeito é de 1 a 2 horas. Quando comparado com a cânabis, a duração dos efeitos é mais curta e o auge é atingido mais cedo nos CBS (5). Isto leva a que os consumidores pensem ter em mão um produto equivalente a cânabis mais eficiente, mais barato e que não é detetável nos testes padrão, levando a uma procura inflacionada destes produtos (12).



Figura 1: Exemplos das embalagens vendidas com canabinóides sintéticos na sua composição.

1.2. Composição

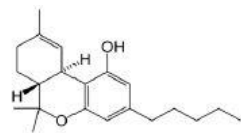
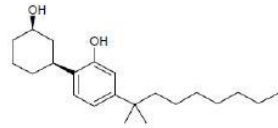
A composição exata destes produtos normalmente não é conhecida, mas existem alguns CBS que são detetáveis. Os compostos mais utilizados na produção pertencem à série JWH, que foram sintetizados pelo químico John W. Huffman. Além desta série, existem os CBS HU, da Universidade Hebraica, a série AM, de Alexandros Makriyannis, a série CP (ciclohexilfenol), desenvolvidos pela farmacêutica Pfizer, a série 2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonilo (TMCP), o grupo WIN, desenvolvido pela farmacêutica Sterling Winthrop e o grupo UR, desenvolvido pelos Laboratórios Abbot. O XLR-11 é um análogo do UR-144, com a diferença de conter um átomo de flúor na posição 5' (2–4,20).

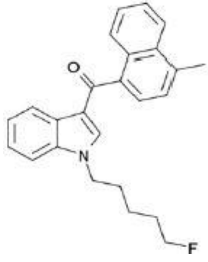
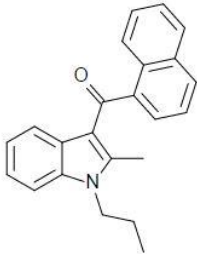
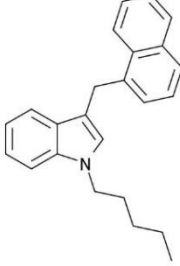
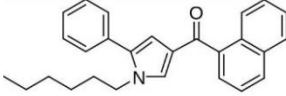
CANABINÓIDES SINTÉTICOS

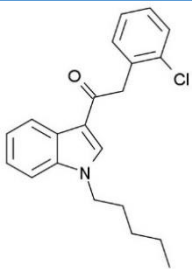
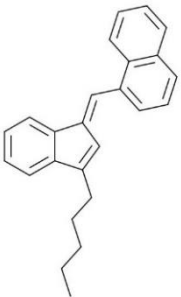
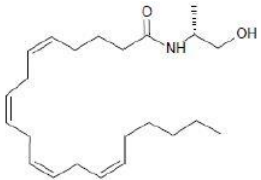
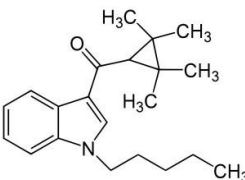
1. Propriedades físico-químicas

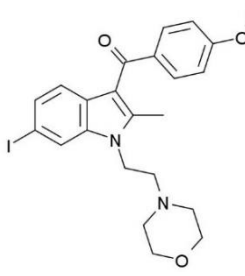
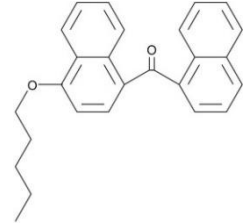
Mesmo com as possíveis alterações que possam existir na estrutura dos diferentes CBS, todos são compostos apolares e solúveis em solventes orgânicos. Na sua estrutura têm entre 20 a 26 carbonos. Os CBS podem ser divididos de acordo com a sua estrutura química, seguindo o princípio que cada substância psicoativa é produzida através da modificação da estrutura molecular de um precursor, provavelmente uma substância ilegal que se encontra regulamentada, sem que os efeitos psicoativos desejados sejam suprimidos (2–4,21).

Tabela 2: Classes de canabinóides sintéticos (3,12,13). **Os exemplos sublinhados correspondem às estruturas representadas.**

Classes de canabinóides sintéticos	Estrutura química	Estrutura molecular	Exemplos
Canabinóides clássicos	Relacionada com o THC de <i>Cannabis sativa</i>		<u>THC</u> ; <u>HU-210</u> ; AM906.
Canabinóides não clássicos	Ciclohexilfenóis ou 3-aryl ciclohexanóis		<u>CP 47,497-C8</u> ; HU-308.

<p>Canabinóides híbridos</p>	<p>Combinações de estruturas de canabinóides clássicos e não clássicos</p>		<p><u>MAM2201</u>; AM2201; AM4030.</p>
<p>Aminoalquilindóis</p>			
	<p>Naftoilindóis (74 compostos)</p>		<p><u>JWH-015</u>; JWH-018; JWH-019; JWH-073; JWH-122; JWH-200; JWH-210; JWH-387; JWH-398.</p>
<p>Compostos JWH</p>	<p>Naftilmetilindóis (9 compostos)</p>		<p><u>JWH- 175</u>; JWH-184; JWH-185.</p>
	<p>Naftoilpirróis (32 compostos)</p>		<p><u>JWH-147</u>; JWH-307</p>

	<p>Fenacetilindóis (28 compostos)</p>		<p><u>JWH-203</u>; JWH-250; JWH-253; RCS-8.</p>
	<p>Não – Aminoalquilindóis</p>		<p><u>JWH-176</u></p>
<p>Eicosanóides</p>	<p>Endocanabinóides e análogos sintéticos</p>		<p><u>Metanandamida</u>; Anandamida</p>
<p>Compostos TMCP</p>			<p>TMCP-H; <u>TMCP-018</u> (UR-144); TMCP-2201; TMCP-200; TMCP-1220</p>

Benzoilindóis		<u>AM-630</u> ; AM-2233; RCS-4;
Outros	Diarilpirazóis 	<u>CB-13</u> ; PB-22; WIN 55,212-2

Existem outros compostos que podem ser encontrados e identificados juntamente com os CBS nos produtos finais que são encontrados à venda: amidas de ácidos gordos, que podem mimetizar a ação de CB naturais (oleamida, palmitamida e esteramida), substâncias que se presumem serem provenientes de plantas, como eugenol, eucaliptol, fitosterol, timol, esqualeno, persicol, ácidos gordos e os seus ésteres (linoleato de etilo, palmítoato de etilo), aromatizantes (etilvanilina, acetilvanilina...), conservantes (benzofenona, benzoato de benzilo e ácido hidroxibenzóico). Têm sido encontrados até 15 compostos diferentes, o que permite uma grande variedade de combinações de drogas, e grandes quantidades de vitamina E, que atua como agente mascarante nas análises dos CBS ativos presentes no produto (3-5,11).

2. Farmacologia

A falta de informação acerca dos riscos associados ao consumo de CBS faz do estudo da sua farmacologia e toxicologia uma prioridade. A compreensão dos efeitos farmacológicos irá permitir desenvolver os tratamentos indicados para os efeitos colaterais relacionados, como os efeitos comportamentais e fisiológicos. A investigação dos componentes que existem nas embalagens, os seus efeitos quando consumidos e qual a dose efetiva de CBS para se produzir um efeito é de extrema importância.

2.1. Farmacodinâmica

São conhecidos dois CBRs, já referidos anteriormente, no corpo humano: O CBR 1, que se encontra maioritariamente nos neurónios do sistema nervoso central, e o CBR 2 que se encontra especialmente nas células do sistema imunitário (8). Ambos os recetores são acoplados à proteína G e respondem a ligandos endógenos (anadamida e o 2-araquidonoil glicerol), ao THC e a CBS (2,13,17). De uma forma geral os CBS possuem maior afinidade para ambos os recetores, funcionando como agonistas totais. A interação de CBS com o CBR 1 pré-sináptico leva à inibição da via da proteína kinase A do cAMP e modula a atividade dos canais de Ca^{2+} e K^{+} , antagonizando o efluxo de vários neurotransmissores excitatórios do neurónio para a fenda sináptica, tais como a serotonina, a dopamina, a noradrenalina, a acetilcolina e o glutamato, e o neurotransmissor inibitório ácido 4-aminobutanóico (GABA). Este impedimento da libertação de diferentes neurotransmissores leva a uma mistura de efeitos psicotrópicos estimulantes e inibitórios. Os CBS interferem na regulação dos processos inflamatórios, na libertação de citocinas e na migração celular quando interagem com o CBR 2 (18,19). Apesar de ainda faltar informação para melhor compreender esta interação, na área médica tem-se direcionado a investigação para os agonistas seletivos do CBR 2 que evitam a interação com o CBR 1, permitindo obter os efeitos terapêuticos pretendidos sem os efeitos psicotrópicos indesejados (13). Porém, existe a possibilidade de afetar de forma negativa o sistema imunitário ao modular a quimiotaxia dos linfócitos T, ou mesmo induzindo a atrofia e apoptose do timo (18).

2.2. Farmacocinética

Apesar de existir uma investigação detalhada sobre o perfil farmacocinético e farmacodinâmico do componente THC, o mesmo não acontece para os CBS. Existem alguns artigos científicos que mostram haver biodisponibilidade oral e por inalação, mas não existe nenhum caso descrito de administração rectal ou parenteral. Os consumidores experienciam efeitos mais intensos quando consomem CBS em comparação ao consumo de marijuana, que podem ser explicados pelas diferenças na farmacocinética, com efeitos produzidos mais cedo e uma duração mais curta (10,20). O início e duração do efeito estão dependentes do produto consumido e variam consoante a quantidade tomada e a via de administração usada para o seu consumo. Comparando o CP-47,497 e o JWH-018, é possível verificar essas diferenças na duração do efeito, uma vez que um induz um efeito longo (5-6 horas), e o outro um efeito curto (1-2 horas), respetivamente (10,20). Os CBS são altamente lipofílicos e a absorção, distribuição, metabolização e excreção são idênticas à do THC. Esta elevada hidrofobicidade favorece a eliminação rápida pela circulação sanguínea através da passagem pelas membranas de bicamada lipídica (21).

Existem poucos estudos que focam o perfil farmacocinético de diferentes CBS, porém sobre o JWH-018 já se encontra alguma informação: depois de o composto ser fumado, a sua concentração máxima no sangue foi encontrada após 5 minutos, demonstrando que em poucos minutos o JWH-018 é absorvido nos pulmões e distribuído pelos órgãos. Ao final de 3 horas as concentrações máximas determinadas tinham desaparecido, e a deteção do JWH-018 parental só foi possível até 48 horas após a inalação (13). Isto permite verificar que o efeito aparece cedo, o que suporta a comparação com a marijuana feita pelos consumidores, e que a deteção com testes convencionais é mais difícil. Num outro estudo comparou-se a farmacocinética do JWH-018 com o JWH-200 e JWH-210, tendo-se verificado que no espaço de 5 horas a concentração dos compostos nos fluídos orais dos consumidores tinha descido para valores entre 0.1 e 1 µg/L para JWH-018 e JWH-210, mas era mais baixo que 0.1 µg/L para JWH-200, mostrando diferentes velocidades de metabolização. No caso do consumo de UR-144, este foi identificado numa amostra de sangue, mas o composto principal não foi encontrado na amostra de urina, só os seus metabolitos (11).

A metabolização destes compostos tem uma importância acrescida, uma vez que conhecer os metabolitos resultantes é importante para a determinação e identificação da presença destes compostos. À semelhança do THC, os CBS, tais como JWH-018 e JWH-073, são hidroxilados pelas vias CYP2C9 e CYP1A2 do citocromo P450 (8,18). Podem ocorrer outras modificações além das hidroxilações durante a metabolização dos compostos aminoalquilindóis, tais como carboxilações, desidrogenações, desalquilações e formação de dihidrodíóis (13,14,22). A fase II da metabolização faz-se por glucuronização, formando glucuronídeos, ou por conjugação a sulfatos, sendo estes os compostos excretados (23). Os metabolitos que se encontram em maior quantidade na urina são os metabolitos monohidroxilados e carboxilados (13). Em estudos mais recentes foi possível determinar que o composto XLR-11 é desfluorinado a UR-144, o que implica que os metabolitos finais são semelhantes para quem usa os dois compostos (24). Isto pode também ocorrer para outros CBS contendo átomos de flúor e suporta a necessidade crescente de encontrar metabolitos únicos que possam funcionar como marcadores do consumo de um CBS, neste caso de análogos fluorados (25,26). Os metabolitos resultantes demonstram também uma alta afinidade com o CBR1, ao contrário do metabolito de THC, retendo o efeito canabimimético e podendo atuar como agonistas totais, parciais ou inversos, ou mesmo antagonistas neutros ou totais (3,4,8,18,27,28). Estes efeitos antagonistas podem estar na base das diferenças entre os CBS e a canábis (20)(23). A afinidade destes compostos é igualmente alta para o CBR 2, que atuam como agonistas fortes e apresentam propriedades de sinalização distintas, levando a crer que as ações dos CBS nos dois recetores devem ser tidas em conta (3,18,28).

Tabela 3: Metabolitos e metabolização de alguns canabinóides sintéticos (4).

Canabinóides Sintéticos	Nº de metabolitos detetados	Principais vias de metabolismo
JWH-018	14	Hidroxilação, Desidratação, Formação de dihidrodíol, Carboxilação, N-desalquilação e hidroxilação, Desidratação da cadeia alquílica lateral.
WIN55212-2	8	Formação de epóxido aromático.

JWH-073	1	Mono hidroxilação.
JWH-122	11	Hidroxilação(s) do grupo naftaleno e/ou do grupo indole da molécula, Hidroxilação em combinação com desidrogenação, Clivagem da cadeia lateral N-fenilo.
JWH-200	20	Clivagem do anel de morfolina.
JWH-073	6	Mono hidroxilação.
HU-210	24	Hidroxilação, Oxigenação.
CP 47,497	8	Oxigenação.
AM-630	17	O-Demetilação do grupo metoxifenilo, Abertura do anel de morfolinilo, Hidroxilação no anel de metoxil/hidroxil fenilo, Hidroxilação no anel de indol, Hidroxilação no anel morfolina, Perda do anel de morfolina.
RCS-4	16	O-Demetilação.
PB-22	20	Hidroxilação na cadeia lateral pentilo, no grupo indol ou na estrutura de quinolina.
5F-PB-22	22	
XLR-11	25	Hidroxilação, Carboxilação, Formação de hemiacetais e hemiacetonas, Desidratação interna, Glucuronidação de alguns metabolitos oxidativos.
JWH-203	31	Mono e di hidroxilação, Mono hidroxilação combinada com formação de um grupo carbonilo na cadeia de N-pentilo, Carboxilação da cadeia N-pentilo, N-desalquilação combinada com mono hidroxilação.
JWH-250	22	Mono e dihidroxilação dos resíduos aromáticos e alifáticos dos compostos parentais, Tri-hidroxilação e desidratação da cadeira N-alquil,

		N-desalquilação, N-desalquilação e mono hidroxilação.
JWH-200	22	Hidroxilação e desidrogenação, Abertura do anel de morfolina, Clivagem do anel de morfolina.

3. Toxicologia

3.1. De onde vem?

Tal como já foi referido anteriormente, o produto comercial que chega aos consumidores é uma mistura de ervas com os CBS pulverizados. No entanto, de acordo com as análises feitas a diferentes embalagens que indicam ter na sua composição CBS, existem outros compostos que são adicionados por diversos motivos, por isso, os efeitos e possível toxicidade proveniente do seu consumo poderá não ser somente causada pelos CBS.

Começando pela mistura de ervas, esta geralmente não está identificada no rótulo, sendo a sua origem desconhecida e, por consequência, também algumas substâncias que se presumem serem provenientes dessa mistura e o potencial efeito no ser humano. Podem ser ervas inofensivas que sirvam como propósito tornar a experiência mais próxima ao consumo de canabinóides naturais, sem provocar qualquer efeito psicoativo (29). Uma vez que não se conhece o perfil farmacológico nem toxicológico de cada uma das plantas pertencentes à mistura, existe aqui um potencial risco (30). Em alguns casos, já foram reportadas plantas com propriedades psicoativas e que poderiam interagir com outras substâncias adicionadas (31). Alguns estudos genéticos começaram a ser feitos para determinar com maior precisão que plantas se encontram na mistura e qual o risco do seu consumo, sendo que a maioria não apresentava nenhuma propriedade psicoativa descrita. No entanto também foram encontrados alguns fragmentos de plantas altamente psicoativas (32).

Outros possíveis contaminantes possivelmente perigosos são os químicos utilizados para a preparação dos CBS. Apesar de normalmente os CBS finais apresentarem uma elevada pureza quando comparados a fornecedores tradicionais, podem surgir químicos utilizados na síntese e purificação em quantidades pequenas ou residuais potencialmente perigosos para o consumo humano (31). O desconhecimento por parte do produtor das características tóxicas para o consumidor dos reagentes, ou a falta de interesse, pode ser benéfico em termos de lucro, mas pode levar a algumas das reações adversas documentadas, devendo ser controlado (33).

Um outro motivo de alerta para o que pode realmente constituir os produtos comerciais vendidos com CBS, é que para além da mistura de ervas e dos reagentes utilizados, outras substâncias podem ser adicionadas posteriormente pelo produtor. Estas diferentes combinações de ingredientes extra não identificados (cafeína, vitamina E, entre outros), que

coexistem no produto comercial, podem potenciar os efeitos psicoativos e serem tóxicos para o ser humano (27,30,34).

3.2. Efeitos desejados e adversos

Apesar de se verificar uma semelhança nos efeitos farmacológicos e toxicológicos entre os CBS e a marijuana, estes continuam a ser substâncias químicas únicas. É necessário traçar o perfil para se delimitar quais os efeitos, tanto os desejáveis como os adversos, e qual a sua gravidade. No entanto, existem múltiplos compostos, muitos por determinar, sendo o controlo da qualidade dos produtos finais inexistente, o que dificulta esta tarefa (35). A informação disponível sobre os efeitos causados pelos CBS provém de relatórios médicos e toxicológicos e da internet, sendo escassos os artigos científicos publicados (36). Isto leva a uma falta de esclarecimento, criando uma sensação enganadora de segurança por parte dos consumidores, tornando-se urgente determinar os efeitos tóxicos específicos causados pelos CBS (16).

Tabela 4: Descrição dos efeitos causado pelo consumo de canabinóides sintéticos (2,3,8,10,11,13,16,19,23,37,39,42).

Efeitos psicoativos	Alucinações visuais e auditivas, Psicose com delírios, Agitação, Comportamento agressivo, Ansiedade, Estimulação ou sedação, Euforia ou disforia, Ataques de pânico, Défice de memória de curto prazo, Disfunção cognitiva, Confusão, Pensamentos desorganizados, Criatividade aumentada, Dormência periférica, Formigueiro, Calor e arrefecimento migratório,
---------------------	---

	<p>Percepção da profundidade alterada, catatonia, Despersonalização, Dissociação, Paranoia, Ideação suicida.</p>
Efeitos neurológicos	<p>Sonolência, Xerostomia, Dor de cabeça, Ataxia, Sequência de movimentos retardada, Fala arrastada, Convulsões, Tremores, Nistagmo, Fasciculações, Hipertonia, Hiperflexão e hiperextensão, Deficiências na atenção, concentração e memória.</p>
Efeitos cardiovasculares	<p>Taquicardia, Hipertensão, Palpitações, Dor no peito, Arritmias, Enfarto agudo do miocárdio, Isquemia cerebral.</p>
Efeitos oculares	<p>Conjuntive avermelhada, Miose, Midríase, Visão turva, Sensibilidade à luz.</p>

Efeitos gastrointestinais	Náusea, Emese, Aumento do apetite.
Outros efeitos	Transpiração, Ondas de calor, Depressão respiratória, Dores musculares, Lesão renal aguda, Boca seca, Hipocalemia, Acidose, Tosse, Inflamação pulmonar, Hipertermia, Rabdomiólise, Sintomas que sugerem efeitos anticolinérgicos, Zumbido.

Como se pode ver pela tabela 4, alguns dos sintomas referidos são difíceis de diferenciar como sendo uma consequência do consumo de CBS. Exemplos simples são as palpitações e pânico, que podem ser uma consequência da ansiedade (37).

Um outro exemplo de como os CBS interferem na regulação endocanabinóide é a regulação de processos da gravidez com a anandamida. Durante a gravidez ocorre uma sinalização endocanabinóide com a anandamida que regula o tempo de implantação do embrião e a receptividade do útero. O consumo de CBS pode interferir na sinalização, pois em baixas concentrações a anandamida estimula a implantação do embrião, mas em altas concentrações inibe (35,38).

3.3. Severidade da intoxicação

A severidade destes efeitos está condicionada por diversos fatores, tais como a estrutura química do CBS e também de outros constituintes que fazem parte da composição

do produto final. As substâncias existentes e as respetivas concentrações na mistura podem levar um consumidor experiente a uma sobredosagem, mesmo que exista uma habituação. Alguns constituintes presentes na mistura como a cafeína e o clenbuterol, por exemplo, podem explicar alguns dos efeitos documentados. Existem substâncias naturais, como o caso dos flavonóides e outros CB, presentes na marijuana que não se encontram nos CBS e que amenizam os efeitos tóxicos. Por exemplo, o CB canabidiol reduz os efeitos ansiogénicos e psicomiméticos do THC, e o CB canabivarina é um antagonista CBR fraco (8). O perfil farmacológico dos CBS também influencia a gravidade das reações. A farmacodinâmica indica-nos que os efeitos podem ser mais intensos que os causados pela marijuana, enquanto a farmacocinética nos indica que os efeitos tóxicos podem ser mais severos. O facto de os CBS se ligarem ao CBR 1 com maior afinidade e eficácia esclarece a razão dos sintomas psicóticos ocorrerem com maior frequência. Existem alguns casos que demonstram uma diferença da reação aos CBS tendo em conta o género do consumidor, embora não exista nenhum estudo sistemático que avalie esta interação (1,7,10–12,24).

3.4. Tolerância e abstinência

A descrição dos efeitos causados pelo consumo ajuda na caracterização da tolerância e dos efeitos da abstinência. Alguns efeitos da abstinência de CBS estão documentados: distúrbios do sono, convulsões e alterações da condução cardíaca e palpitações. Neurologicamente, os utentes que consumiram CBS apresentam depressão, disfunção neurovegetativa e propensão ao suicídio. Em termos de consequências psicóticas da abstinência, alguns efeitos persistem para além da intoxicação: delírios, discurso e comportamento desorganizado, embotamento afetivo, crescente e minguante desaceleração psicomotora (16,23). Os efeitos psicoativos causados pela abstinência poderão ter de ser tratados com medicação antipsicótica e benzodiazepinas (11,23,40). Têm surgido cada vez mais programas de tratamento e centros de reabilitação específicos para consumidores destas drogas, indicando que existe um fator viciante que deve ser tratado (11,41). Esta consequência do consumo de CBS era de esperar, uma vez que a marijuana apresenta o mesmo potencial viciante. Normalmente, os efeitos de abstinência resolvem-se num espaço de uma semana a um mês, mas existem casos em que sintomas residuais persistiram (16,19,37). Em geral, os sintomas causados pela abstinência de CBS são idênticos aos causados pela abstinência a marijuana, mas com uma maior severidade. Porém, não existe um plano de tratamento

definido para resolver os sintomas da abstinência nem da dependência, sendo necessário desenvolver estudos que avaliem o efeito do abuso de CBS a longo prazo (40).

3.5. Tratamento da intoxicação

A realidade é que não existe um plano de tratamento ou um antídoto específico para tratar a intoxicação por CBS. O processo natural para lidar com estas situações é identificar os sinais e sintomas que se manifestam e tratar as complicações que possam ocorrer. O objetivo primário na linha de tratamento é encontrar uma forma de estabilizar o utente através do tratamento sintomático e de suporte. A intervenção mais comum é hidratação por fluídos intravenosos, que permite agir contra os efeitos fisiológicos e psicológicos. Tendo em conta os sintomas acima referidos, a temperatura e as funções renais, musculares, cardiovasculares, respiratórias e hepáticas devem ser monitorizadas. No caso do paciente sintomático apresentar sintomas mais acentuados, deve-se realizar uma eletrocardiograma e ser controlado. Quando o paciente é assintomático, não apresentando nenhuma desconfiança de outra droga ingerida ou de sintomas psiquiátricos em geral, pode receber alta. Na maior parte dos casos, os sintomas desaparecem dentro de algumas horas após o consumo da droga. Avaliando o quadro clínico do paciente, outros percursos podem ser tomados tendo em conta os sintomas e a sua severidade:

- Complicações simpaticomiméticas, agitação, convulsões, catatonia, taquicardia, hipertensão e ansiedade severa podem ser controladas por fluídos intravenosos e benzodiazepina (sedativo) intramuscular;
- Antieméticos devem ser usados para tratar náuseas e emese;
- Antipsicóticos devem ser usados para tratar alucinações e comportamento agressivo;
- No caso do individuo apresentar síndrome de serotonina, além da benzodiazepina, deve-se incluir ciproheptadina;
- Hipertensão extrema, que resiste ao tratamento por benzodiazepina, pode ser tratada com vasodilatadores. O uso de bloqueadores beta não é aconselhável, uma vez que pode desencadear uma estimulação alfa-adrenérgica sem oposição, piorando a hipertensão;
- Para a hipertermia, o plano de tratamento recomendado é parálise com agentes não despolarizantes, intubação traqueal e ventilação. Os antipiréticos e o dantroleno (relaxante muscular) são ineficazes;

- O tratamento da hiponatremia depende do estado do paciente. Quando este se encontra assintomático, a restrição de líquidos é suficiente. Na presença de sintomas neurológicos, o aconselhado é corrigir o sódio por intermédio de uma solução salina hipertónica;
- Em teoria, os antagonistas para os CBR 1 poderiam reverter os efeitos dos agonistas de CB1 sintéticos. Porém, não existe nenhum medicamento disponível com atividade antagonista no CBR 1;
- Num estudo que visava demonstrar a relação moduladora bidirecional entre sistemas opióides e CB, a naloxona permitiu à paciente, que procurava destoxificação, controlar os seus desejos. Portanto, a naloxona é apontada como possível opção (3,8,11,16,17,19,20,23,37–40,42).

O grande problema que se coloca no tratamento de intoxicação por CBS é o mesmo que leva ao aumento da sua popularidade: raramente a identificação dos compostos absorvidos por análise do sangue ou urina após o consumo é bem-sucedida (19,39,40). Isto, juntamente com o facto de os sintomas associados não serem específicos, pode colocar em risco o diagnóstico adequado. Os profissionais de saúde necessitam de ser alertados para os sintomas e riscos da intoxicação por CBS, de modo a conseguirem identificar a intoxicação mesmo em casos de resultados negativos em teste de despistagem (16,40). No entanto, o diagnóstico está dependente da informação cedida por parte do indivíduo. Na situação dos CBS, o consumidor nunca sabe em concreto a composição do produto. A informação é sempre insuficiente, pois produtos diferentes entre si têm sempre efeitos associados distintos (10). O inexistente controlo da qualidade na produção e identificação de qual ou quais CBS existentes na embalagem, dificulta o diagnóstico, sendo, mais uma vez, mais um grande problema destas drogas. É pois, essencial desenvolver métodos analíticos que sejam seletivos, sensíveis e de alto rendimento capazes de identificar os CBS presentes tanto nos produtos comercializados como nos fluidos biológicos (plasma, urina, saliva) (4).

4. Análise de amostras

Tendo em conta o crescendo de popularidade dos CBS, é imperativo encontrar formas de identificar rapidamente estes componentes nas embalagens que se comercializam, assim como nos fluídos biológicos. Deste modo, os métodos analíticos a desenvolver necessitam de detetar os diversos CBs, que podem pertencer a diferentes classes químicas, bem como dos seus metabolitos (caso de fluidos biológicos). Ora, os métodos utilizados normalmente no rastreio de drogas, inclusive de marijuana, são ineficazes para estas drogas (8,13,18). No caso de intoxicações é preciso que o médico tenha ferramentas necessárias para decidir qual o melhor caminho para chegar ao diagnóstico: procurar CBS nas amostras e também os seus metabolitos, no caso dos fluidos biológicos. A deteção dos compostos parentais é atualizada sobretudo para a caracterização dos produtos nas embalagens. A determinação dos CBS nos fluidos biológicos é mais difícil pois estes são rapidamente metabolizados, existindo no organismo em baixas concentrações e encurtando as janelas de deteção (43). Nos casos de consumo crónico, pode ocorrer a acumulação no tecido adiposo (44). Normalmente a decisão de análise do CBS ou dos metabolitos depende do tipo de amostra biológica que o laboratório tem para o despiste e do tempo disponível para a análise. No entanto não sendo estes métodos analíticos de ensaios de rotina, os centros médicos e os hospitais muitas vezes não têm acesso (8). Além disso, tendo em conta o tempo que estas análises demoram, não é possível usufruir da informação em tempo útil (37). Surgiram alguns dispositivos comerciais para a despistagem de CBS com alto rendimento, mas necessitam de confirmação cromatográfica para obter uma resposta mais específica (13). Mais uma vez, a constante alteração da composição dos CBS que aparecem no mercado complica o desenvolvimento destes dispositivos (8,18). As metodologias têm-se desenvolvido com sucesso, ultrapassando estas dificuldades, mas a criação dos materiais de referência não prossegue com a rapidez necessária para a deteção dos novos CBs que vão aparecendo (18,44). O ideal seria encontrar uma forma não específica de identificar a presença deste tipo de compostos, além de que muitos são misturas de ervas e outras substâncias impossíveis de conhecer completamente a sua composição.

4.1. Preparação da matriz

Existem dois tipos de amostras para análise: produto comercial ou as amostras biológicas. A preparação adequada depende de vários fatores: da estabilidade do composto, do seu metabolismo (caso das amostras biológicas). Por exemplo, os compostos parentais

são encontrados no cabelo, sangue, soro e fluído oral, mas como os CBS são lipofílicos, a eliminação dos compostos parentais através da urina é baixa. No entanto, os metabolitos são detetados na urina. A preparação pode ser por diluição simples (43), extração líquido-líquido (LLE) (4,43,45), precipitação de proteínas, extração em fase sólida (SPE) (4,43,45), LLE por “salting-out” (SALLE) (43), extração de líquido apoiado (SLE) (43), hidrólise por ácido (43), base ou enzimas (43), lavagem com ou sem digestão base (só para amostras de cabelo) (43) e extração com derivatização (4,43). A SPE tem vantagens sobre as demais técnicas pois tem baixo consumo de solvente e consegue purificar a amostra e concentrar os analitos, reduzindo o efeito de matriz. A derivatização, após a extração é uma técnica a considerar tendo em conta os vários grupos funcionais ativos e polares, próprios destes compostos. Esta técnica vai permitir uma melhor resolução, aumentar a eficiência analítica, a estabilidade e o limite de deteção analítico. A opção que mostrou melhores resultados foi a silição, pois aumenta a sensibilidade e reduz o tempo de retenção, mas a acetilação também é indicada (4). A fluoroacetilação diminui a estabilidade térmica, por isso não é recomendável (2,14,20,46).

4.1.1. Amostras do produto

A extração dos compostos faz-se com solventes orgânicos tendo em conta a sua hidrofobicidade. É preciso ter em atenção que alguns solventes orgânicos podem degradar algumas amostras. A escolha do solvente deve ser adequada ao CBS que vai ser examinado. Após a extração, o resíduo é reconstituído com metanol, acetato de etilo ou fase móvel e analisado por cromatografia (4).

4.2. Métodos de análise

Esta etapa da análise de amostras tem como objetivo identificar todos os possíveis resultados positivos para estes compostos. Para tal, é preciso comparar os resultados com as bases de dados já existentes relativamente aos espectros de referência, para se reconhecer o composto. Contudo, a probabilidade de alguns compostos não serem reconhecidos (falsos negativos) é grande, uma vez que para cada novo CBS e metabolitos diferentes estruturas e espectros são obtidos e muitas vezes não estão nas bases de dados. Isto implica uma constante atualização das bases de dados, de modo a se obterem resultados com maior taxa de sucesso possível (4,13,16,23,44,47).

Para todos os positivos obtidos, é necessário confirmar os resultados para garantir a sua veracidade. A confirmação dos resultados permite maximizar a especificidade da análise,

proporcionando a sua identificação. A crescente especialização destes métodos ajuda a identificar e detetar os CBS e metabolitos através da sua estrutura química, mas não ajuda no diagnóstico médico imediato (8,13,36).

A dificuldade na identificação de CBS e metabolitos encontra-se no facto de estes ainda serem pouco conhecidos. Apesar da estrutura química de alguns SBC já serem conhecidas, da maior parte não o são, isto porque constantemente novas estruturas químicas são sintetizadas. As metodologias têm-se desenvolvido no sentido de conseguir estimar a estrutura, e algumas com sucesso. No entanto, ainda há muito caminho por percorrer (44).

4.2.1. Cromatografia gasosa (GC)

Este método de separação é rápido e oferece uma boa exatidão e precisão (4). Embora não seja necessária uma grande quantidade de amostra para ocorrer a separação dos compostos, os compostos a determinar precisam de ser voláteis. Se não o forem, é preciso derivatizá-los no sentido de diminuir o ponto de ebulição de modo a ser adequado à injeção no GC (36,37,47). A temperatura favorece a volatilização dos compostos, mas pode causar degradação térmica. Ainda assim, este efeito pode ser ultrapassado com o uso de curvas de calibração ou padrões deuterados (4). Os compostos de interesse (analitos) presentes em amostras biológicas devem ser extraídos das amostras e injetados no cromatógrafo posteriormente, de modo a purificar e concentrar a amostra. Só extratos orgânicos podem ser injetados, portanto é necessário retirar a água presente na amostra e trocar por um volume menor de solvente orgânico (4,36,37,47). Para se conseguir determinar qual ou quais CBS estão presentes na amostra é necessário comparar com bases de dados de espectros de massa (36,44).

4.2.2. Cromatografia líquida (LC)

A técnica de LC permite a injeção só de amostras aquosas, o que leva a uma análise rápida com alto rendimento de amostras de urina diluída, soro e sangue (47). Como a sua utilização é simples, e alta sensibilidade e seletividade, acaba por fazer desta técnica a mais usada para a separação de CBS quando não existem imunoensaios (4,36). Por vezes, o processo pode ser demorado quando se pretende uma caracterização completa. A deteção é feita usando as técnicas de ionização por “eletrospray” (ESI) ou ionização química à pressão atmosférica (APCI) (4,36).

O LC-MS permite a identificação de cada composto com o presumível peso molecular e pelos respetivos m/z (36). Esta é a única técnica capaz de encontrar iões moleculares protonados, mas fornece menos informação geral do que o GC-MS (44). As amostras biológicas são complexas, e contêm endocanabinóides em grande quantidade que podem coeluir durante a análise. Como os CBS se encontram em menor proporção, é provável que o seu sinal seja encoberto (4,36). A abordagem com MS *tandem* amplifica o sinal dos compostos em menor quantidade e reduz o sinal, aumentando a especificidade e seletividade (36). Recentemente, tem-se optado por utilizar o LC acoplado por MS *tandem* para se obter melhores resultados, além de que se consegue a identificação de metabolitos em amostras de urina e de outros ingredientes desconhecidos pertencentes aos produtos comercializados (44). No entanto, exige que ocorra previamente extração, concentração ou derivatização, tal como o GC-MS (37). A LC nano é mais rápida e obtém-se menores limites de deteção. É uma boa alternativa ao LC-MS e ao GC-MS, uma vez que o consumo de solvente é reduzido (4).

4.2.3. Ressonância magnética nuclear (NMR) e espectroscopia no infravermelho (IR)

Apesar de as técnicas de separação acopladas com detetores de espectrometria de massa permitirem a identificação (LC-MS e GC-MS) dos compostos, estas apresentam algumas dificuldades a identificar isómeros conformacionais. Utilizando os métodos espetais NMR e IF, é possível obter um esclarecimento concreto sobre a estrutura dos CBS. Esta informação complementa a obtida por MS, principalmente nos casos em que não é possível identificar os compostos. O conhecimento da estrutura dos isómeros é fundamental, para se estudar a sua atividade biológica (4,48–50). É importante salientar que a análise de amostras complexas (misturas) por espectroscopia IR não é apropriada, sendo necessário separar os analitos previamente (4). Recentemente, tem-se aplicado a espectroscopia de IR próximo na análise de CBS, uma vez que são mais rápidas e precisas e não destroem a amostra (51). Marino e colaboradores desenvolveram um método de NMR que ultrapassa a necessidade de altas quantidades de analito na amostra. Conseguiram, inclusive, analisar uma mistura de matrizes vegetais com CBS sem separação prévia (50).

4.2.4. Espetrometria de massa (MS)

Uma vez que esta técnica analítica visa a determinação através da razão entre a massa e a carga (m/z), o MS de alta resolução ou em *tandem* são a melhor opção, pois permitem diferenciar compostos com massa molecular semelhante, mas estrutura química diferente.

Isso ajuda na determinação dos compostos, uma vez que muitos dos CBS se distinguem por alterações conformacionais, como isómeros conformacionais e regioisómeros. A utilização da cromatografia acoplada ao MS também facilita a discriminação dos isómeros. O limite de deteção do método é muito baixo para a análise destes compostos, por isso os modos de análise são a monitorização seletiva de iões (SIM) ou monitorização de reações múltiplas (MRM), e raramente em modo *full-scan* (drogas em baixas concentrações não são detetadas). Contudo, a escolha destes modos implica um conhecimento prévio da estrutura do composto, o que nem sempre é possível com o frequente aparecimento de novos compostos (4,44).

4.2.4.1. Técnicas de ionização de espetrometria de massa

Estas técnicas, como a ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI) ou a análise direta em tempo real (DART) permitem uma análise aos CBS rápida e económica. Acoplando o DART ao MS, os resultados obtidos exibem uma alta resolução e massas moleculares exatas. A amostra, na maioria dos casos, não precisa de ser preparada previamente, podendo ser analisada diretamente. A adição de um agente de supressão na matriz deverá contrariar o efeito de outros compostos interferentes, que põem em causa a eficácia da ionização de moléculas pequenas. A técnica de APCI também poderá ser uma opção para ultrapassar o efeito da matriz. A adição de padrões internos, marcados com isótopos estáveis, está condicionada com o material de referência que, no caso dos CBS, apresenta dificuldades em ser atualizada de acordo com os compostos novos que surgem frequentemente (4,16).

ÂMBITO E OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO

Os CBS foram desenvolvidos para mimetizar os efeitos causados pela *cannabis*. Apesar destas substâncias serem cada vez mais estudadas para compreender os perigos do seu consumo, os esforços não são suficientes para combater a sua presença no mercado. São sintetizados diariamente novos compostos canabiméticos para propósitos recreativos, em que cada um tem meios de ativação e efeitos diferentes entre si. Prever a severidade toxicidade destes novos compostos é uma tarefa necessária, mas difícil.

Desenvolver os perfis farmacológicos dos CBS é importante, mas não é suficiente para compreender o que acontece quando os produtos comerciais são fumados. O que o indivíduo consome não é só CBS, mas sim uma mistura de ervas, normalmente desconhecida, com os CBS pulverizados. Por vezes, são adicionadas ainda outras substâncias para otimizar o potencial psicoativo do produto ou até mesmo mascarar os CBS nas análises. Ainda por mais, como normalmente os produtos comerciais são fumados, outros compostos são formados e igualmente consumidos. Existe, pois, uma panóplia de compostos que compõem os produtos comerciais, em que a maioria é desconhecida. Portanto, os efeitos desejados e tóxicos podem ter a sua origem tanto nos CBS, como nas plantas e outros produtos que lá se encontram.

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi identificar as substâncias que compõem as amostras comerciais disponíveis no comércio e, também, elucidar outras possíveis fontes dos efeitos psicoativos e de toxicidade. Para o efeito, analisou-se o conteúdo das embalagens antes e depois de serem aquecidas a altas temperaturas para similar o que acontece quando fumadas. Como o conteúdo das embalagens é exposto, a altas temperaturas fizemos a combustão das amostras no laboratório e analisamos os produtos da pirólise por GC-MS. Simultaneamente simulamos quebras na estrutura molecular dos CBS e fomos tentar encontrar esses compostos de pirólise nas amostras após combustão.

Com a informação conseguida, procurou-se descobrir e compreender o que acontece ao produto comercial depois de o indivíduo o aquecer e depois fumar e tentou-se identificar quais as substâncias presentes nas amostras que poderão ter ainda efeitos psicoativos, assim como prever se serão tóxicas para o consumo humano. Para tal, foi desenvolvida uma técnica que permitiu mimetizar a queima e inalação dos produtos tal como são consumidos, retendo posteriormente os compostos formados para serem identificados. Os produtos de combustão foram analisados por GC-MS.

Capítulo 2

MATERIAIS

1. Amostras comerciais

Foram analisadas quatro amostras de produtos comerciais com o nome “Caramba”, “Esfinge”, “Magic” e “Mandala” (figura 2 a 4). As amostras foram cedidas pela Polícia Judiciária de Lisboa ao abrigo de um protocolo estabelecido entre a Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto e esta entidade.





2. Equipamento e reagentes

O metanol (HPLC Grade), o acetato de etilo (HPLC Grade), o éter de petróleo (HPLC Grade) e o diclorometano (HPLC Grade) foram comprados na Fisher Chemicals. A extração por fase sólida (SPE) foi realizada com uma coluna C18 de 3mL Sep-Pak da Waters (Milford, Massachusetts, USA). O vácuo usado na técnica de “blazing” foi o SPE Vacuum Pump da BUSHI LaborTechnik AG (Suíça). O equipamento escolhido para a ressuspensão dos voláteis foi o SUPELCO Visiprep™ SPE Vacuum Manifold (Sigma-Aldrich), que está representado na figura 5. A filtragem das amostras foi realizada com filtros Chromopure PTFE, com diâmetro de poro de 0,45 µm e 25 mm de diâmetro e seringas Terumo® sem agulha. Os vials usados na análise GC-MS tinham 2 mL de volume e o tubo de combustão para a técnica de “blazing” 10 mL. Foi utilizado um padrão de mistura de isómeros de estéres de metilo de ácidos linoleicos 10 mg/mL da Sigma-Aldrich (EUA).

O cromatógrafo gasoso, representado na figura 6, utilizado na análise de GC-MS foi o Bruker EVOQ GC-TQ, com o cromatógrafo compacto 436 e o software MS Data Review 8.2. O gás transportador foi o Hélio C-60 (Gasin, Portugal). As condições do GC e do MS estão descritas no ponto 2 do subcapítulo Métodos.



MÉTODOS

1. Preparação das amostras

Inicialmente foi realizada uma análise às amostras, em que cada uma foi triturada num almofariz com um pilão (figura 7). Foram recolhidas 5 mg de cada amostra e dissolvidas em metanol (HPLC Grade), sendo posteriormente homogeneizadas num vórtex e sonicadas por 30 segundos. Por fim, foram filtradas e o extrato metanólico foi analisado por GC-MS.



Para a técnica de “blazing”, alíquotas de 5 mg das amostras trituradas foram pesadas em quintuplicado e colocadas num tubo de combustão de acordo com o método descrito na secção 3 deste subcapítulo. As cinzas (figura 8), depois de arrefecerem, foram dissolvidas com 1 mL de metanol (HPLC Grade) e os voláteis foram recolhidos por ressuspensão em 2 mL de um dos reagentes (HPLC Grade) referidos no subcapítulo 2 deste capítulo (figura 5). Tanto as cinzas como os voláteis foram recolhidos para recipientes de amostras, antes de serem diluídos para concentrações de 1 mg/mL (aproximado para as cinzas) e transferidos para os tubos e analisados no GC-MS (figura 6).



2. Condições do GC-MS

O gás de arraste, o Hélio C-60 (Gasin, Portugal), foi o escolhido, com fluxo constante de 1mL/min. A injeção foi feita manual e automaticamente em modo *splitless* com a temperatura do injetor de 250 °C. A temperatura do forno foi mantida a 100°C por 1 minuto, sendo posteriormente aumentada até 300 °C a 15 °C/min e mantida a 300°C durante 20 minutos. Durante os primeiros 2 minutos, a ionização não foi acionada de modo a evitar sobrecarga de solvente na fonte de ionização. Os dados obtidos foram recolhidos desde 50 a 600 m/z. A corrente de emissão foi de 30 μ A e o tempo de ionização máxima de 25,000 μ s. A aquisição de MS foi realizada entre 4 a 30 minutos depois da injeção da amostra. Foi selecionado o modo *Full Scan* para a identificação dos compostos, uma vez que permite a deteção de todos os iões (m/z).

3. Técnica de “blazing”

A utilização deste método destinou-se à combustão das amostras comerciais sob condições que mimetizassem as de fumar recreativamente, uma das formas preferenciais de consumo destes produtos comerciais contendo CBS (figura 9). As amostras previamente trituradas e pesadas foram transferidas para um tubo de combustão, que foi aquecido com um bico de Bunsen. Ligado a esse tubo, estava um outro tubo que, por sua vez, estava ligado ao cartucho de SPE através de uma porção de tubo flexível e uma pipeta Pasteur cortada. A base do cartucho de SPE foi conectada a uma bomba de vácuo, com uma pressão entre 130 a 140 mbar. Todo o sistema foi previamente selado com parafilm, de modo a evitar a perda dos voláteis formados na pirólise.

O bico de Bunsen e o sistema de vácuo foram ligados, e a partir daí era contado o tempo em que a pirólise se ia realizar. A combustão da amostra decorreu rapidamente e foi bem visível no tubo, produzindo um aroma bastante intenso. O fumo produzido, também bastante visível, era puxado do tubo pelo sistema de vácuo e capturado pelo cartucho de SPE. Passado o tempo de pirólise desejado, o bico de Bunsen e o sistema de vácuo foram desligados.

Os voláteis capturados no cartucho de SPE foram extraídos de acordo com o método descrito na secção 1 deste subcapítulo. Esta técnica foi realizada em quintuplicado para cada amostra comercial.



Capítulo 3

1. Análise dos extratos metanólicos das amostras comerciais antes da pirólise por GC-MS

A análise dos extratos metanólicos das amostras comerciais previamente à pirólise permite determinar e identificar os compostos que realmente estão presentes na mistura de ervas (figuras 10 a 13). Deste modo, usando estes cromatogramas como referência, poder-se-á comparar com os cromatogramas dos extratos metanólicos dos CBS após a pirólise por técnica de “blazing” e verificar-se que processos e transformações ocorrem (tabelas 5 a 8). A possível identificação de cada um dos picos cromatográficos foi feita através da utilização da biblioteca de espectros de massa *swgdrug* e o critério de seleção para a identificação foi considerar as identificações com valores de *match* acima de 700 provavelmente corretas. Posteriormente a esta primeira seleção, procurava-se os valores de *match* e *reverse match* mais altos e com um menor intervalo de diferença entre eles (52).

“CARAMBA”

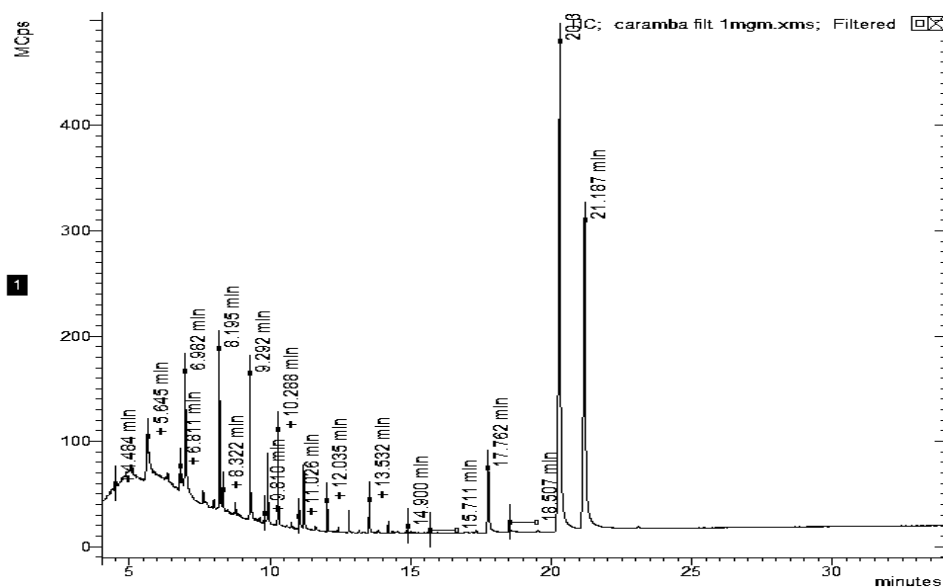
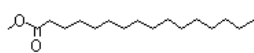
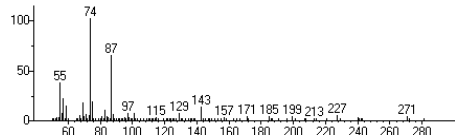
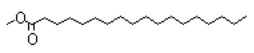
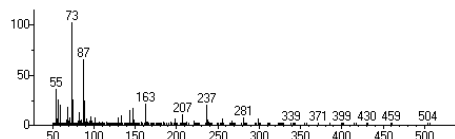
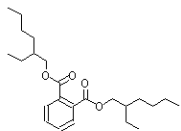
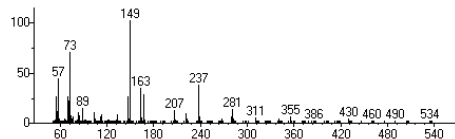
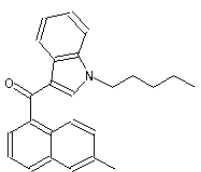
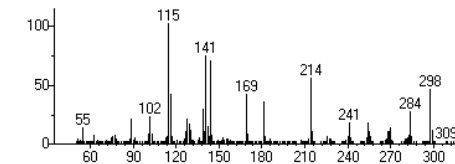
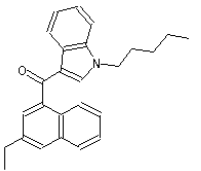
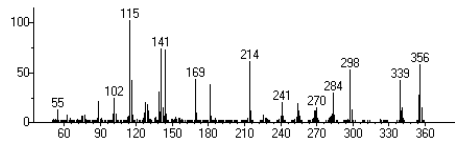


Tabela 5: Compostos químicos, identificados pela biblioteca swgdrug, no extrato metanólico da amostra comercial “Caramba” filtrada.

Nome	Estrutura molecular	Tempo de retenção	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo		9.926 min		820/914
Estearato de metilo		11.213 min		664/769
Ftalato de dioctilo		13.525 min		747/857
JWH-122 6-metilnaftil isómero		20.299 min		773/809
JWH-210 3-etilnaftil isómero		21.191 min		773/797

“ESFINGE”

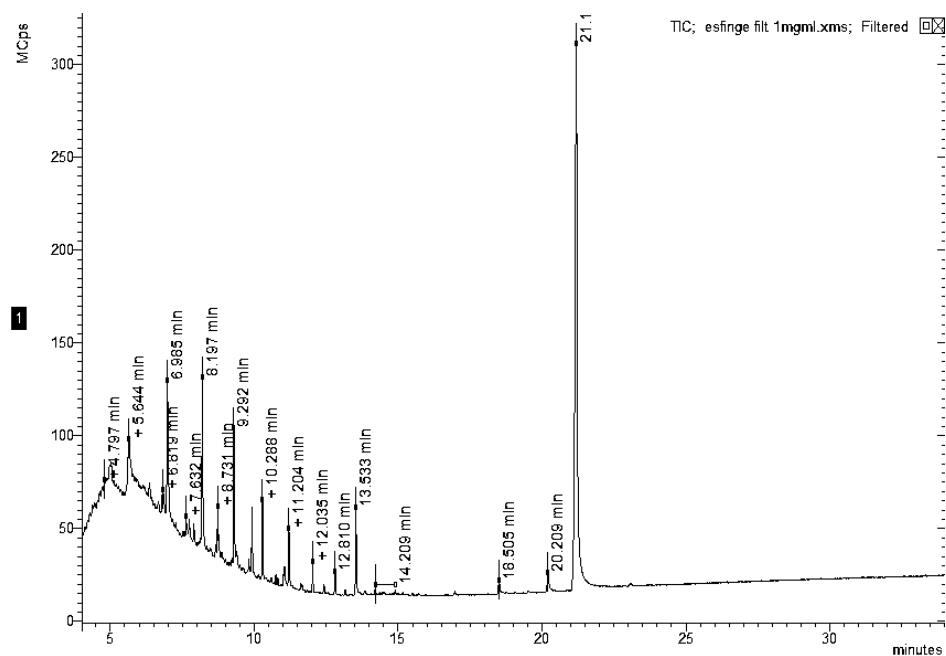
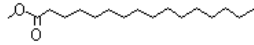
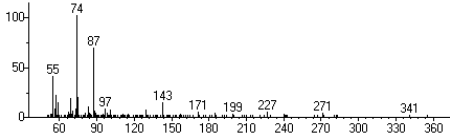
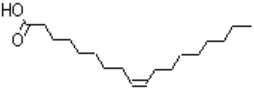
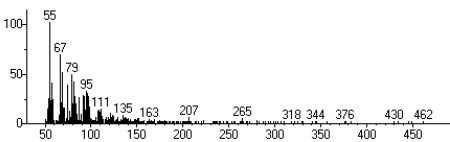

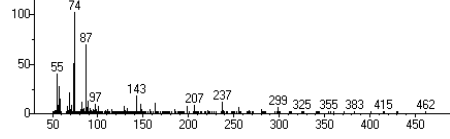
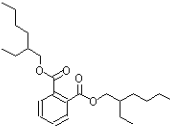
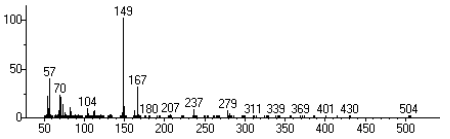
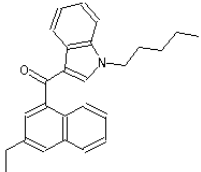
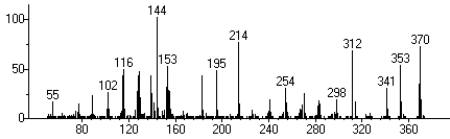


Tabela 6: Compostos químicos, identificados pela biblioteca swgdrug, no extrato metanólico da amostra comercial “Esfinge”.

Nome	Estrutura molecular	Tempo de retenção	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo		9.926 min		820/914
Ácido oleico		11.066 min		710/736
Estearato de metilo		11.213 min		664/769
Ftalato de dioctilo		13.525 min		747/857
JWH-210 3- etilnaftil isômero		21.191 min		772/792

“MAGIC”

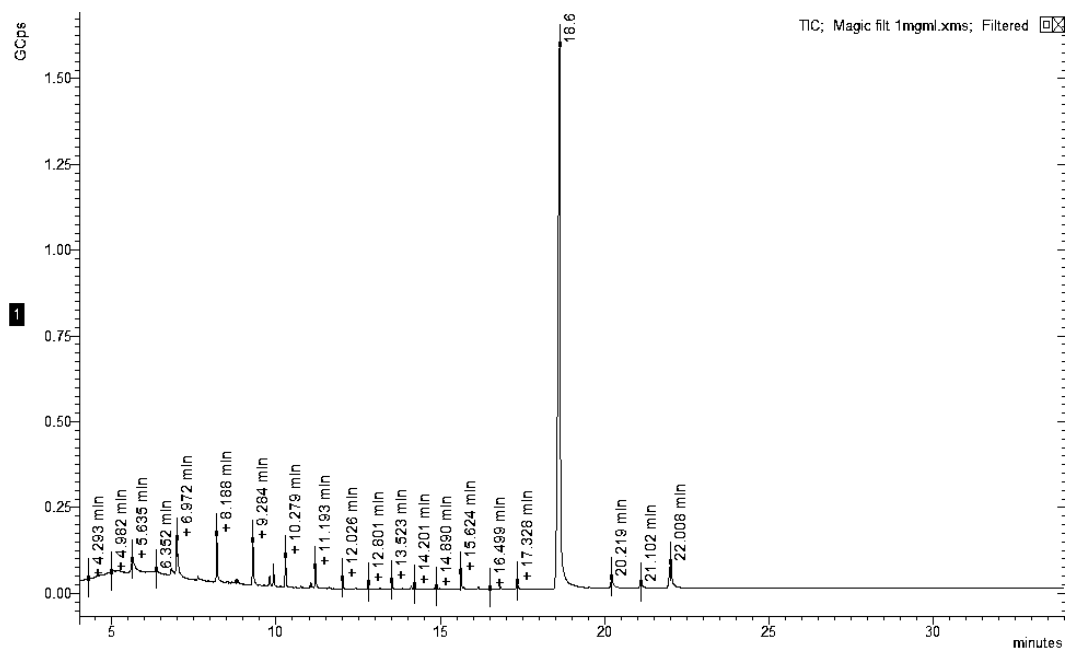
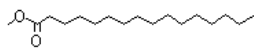
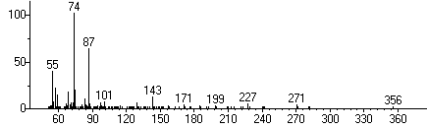
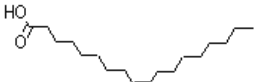
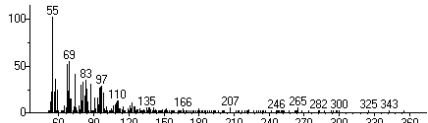
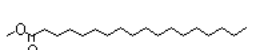
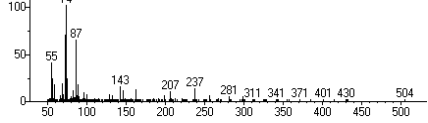
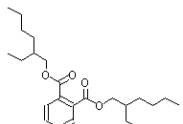
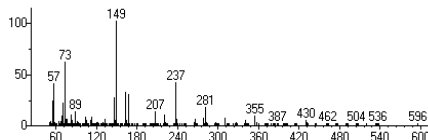
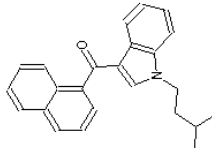
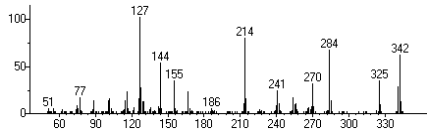
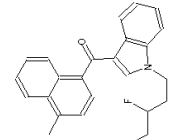
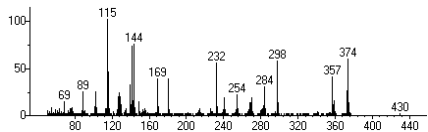


Tabela 7: Compostos químicos, identificados pela biblioteca swgdrug, no extrato metanólico da amostra comercial “Magic”.

Nome	Estrutura molecular	Tempo de retenção	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo		9.933 min		853/923
Ácido oleico		11.065 min		755/770
Estearato de metilo		11.213 min		654/767
Ftalato de dioctilo		13.520 min		486/741
JWH-018 N-3-metilbutil isômero		20.299 min		798/802
MAM2201 N-(3-fluoropentil) isômero		22.008 min		792/823

“MANDALA”

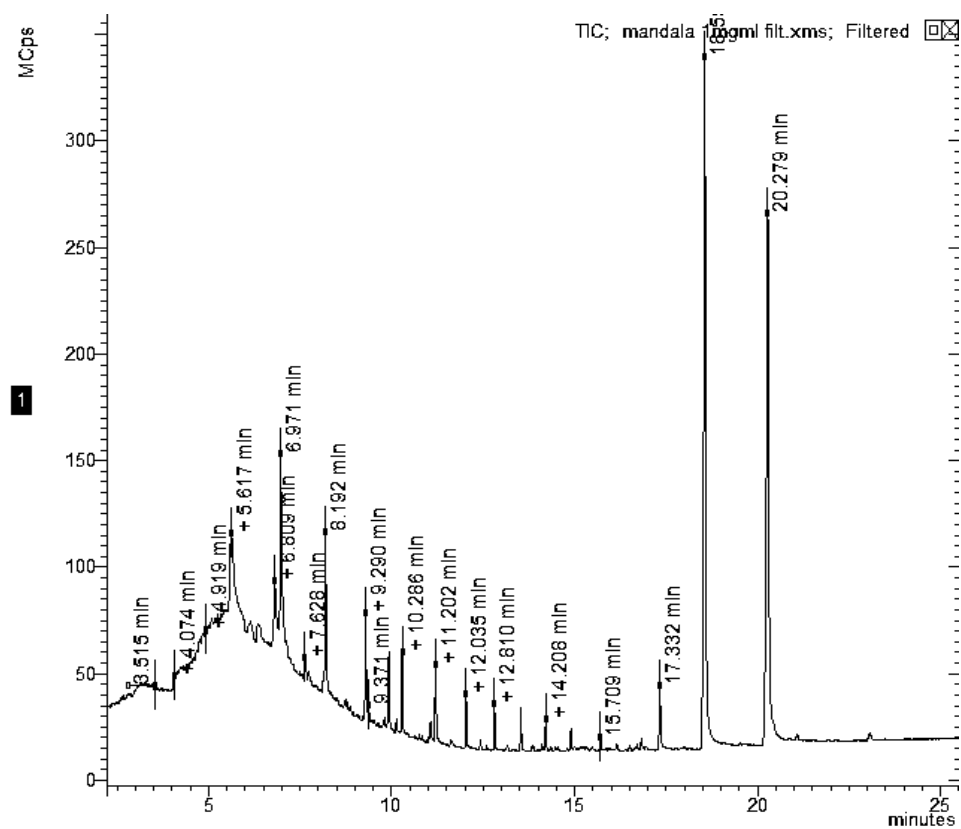
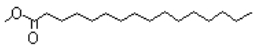
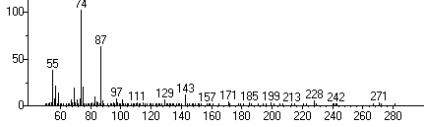
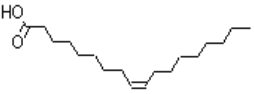
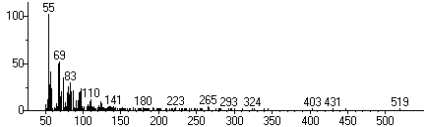
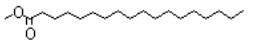
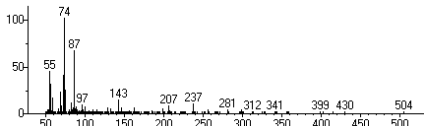
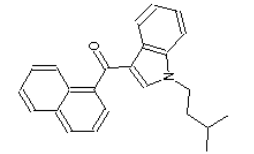
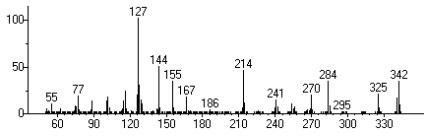
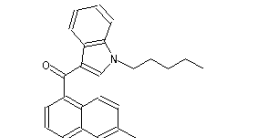
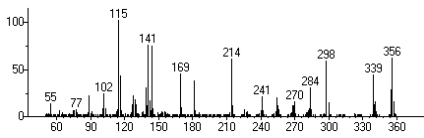


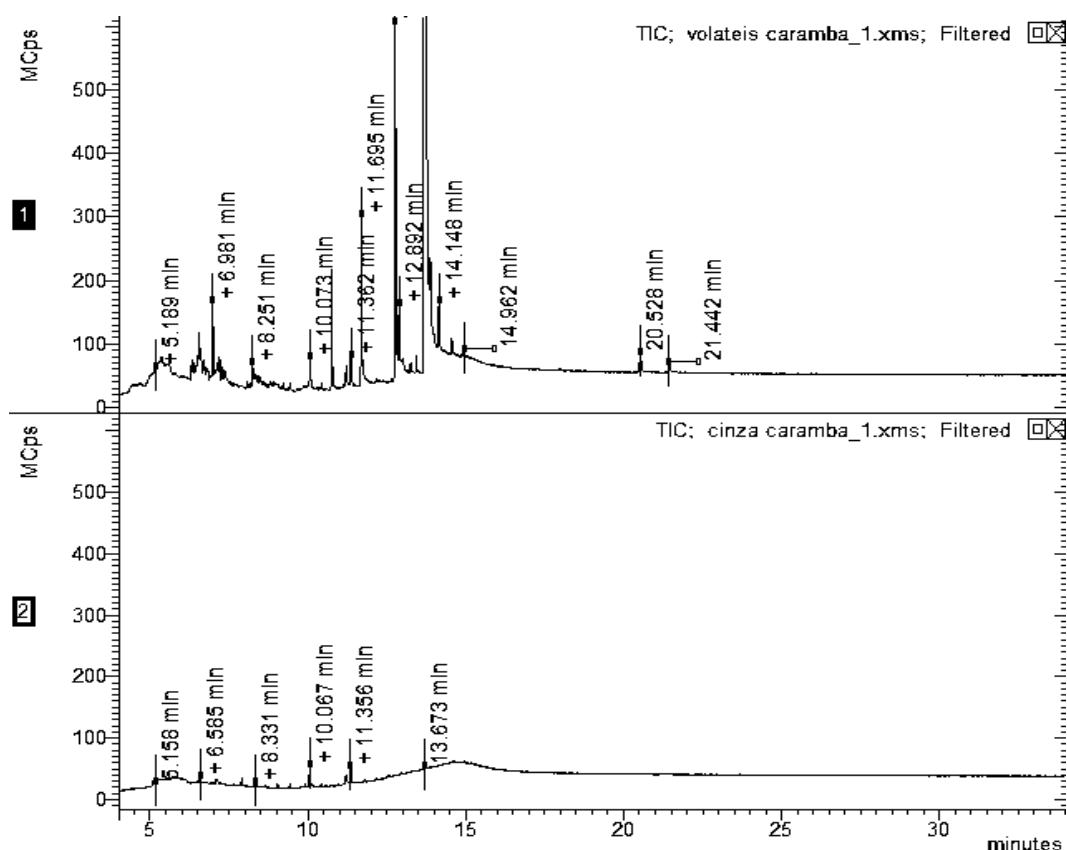
Tabela 8: Compostos químicos, identificados pela biblioteca swgdrug, no extrato metanólico da amostra comercial “Mandala”.

Nome	Estrutura molecular	Tempo de retenção	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo		9.924 min		810/882
Ácido oleico		11.057 min		743/755
Estearato de metilo		11.214 min		686/791
JWH-018 N-3-metilbutil isômero		18.563 min		849/851
JWH-122 6-metilnaftil isômero		22.269 min		792/823

2. Análise das amostras comerciais após a pirólise de 10 minutos

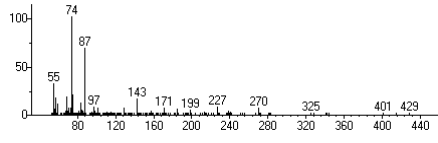
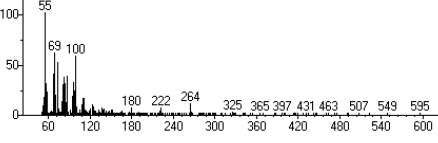
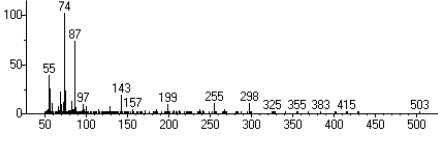
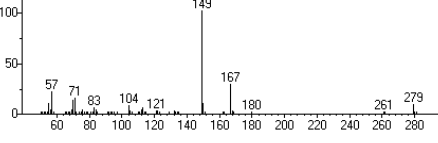
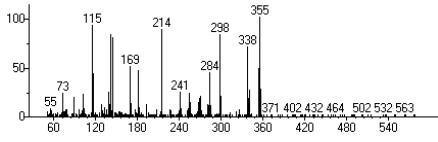
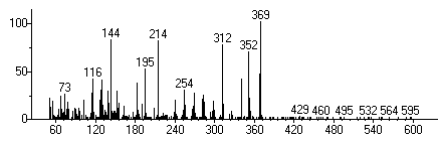
Tanto os voláteis como as cinzas resultantes da pirólise por técnica de “blazing” foram recolhidas e analisadas por GC-MS. Comparando com os cromatogramas dos extratos orgânicos das amostras comerciais filtradas, é possível observar que ocorrem transformações fruto da queima da mistura de ervas e que alguns dos compostos iniciais permaneceram. O processo de identificação com a biblioteca *swgdrug* decorreu da mesma forma que com as amostras comerciais filtradas.

“CARAMBA”



A figura 14 representa os cromatogramas GC-MS dos extratos metanólicos dos voláteis e cinzas, respetivamente, da amostra comercial “Caramba”. Na tabela 9 estão identificados os compostos que foram igualmente encontrados no extrato metanólico da amostra comercial filtrada. Tendo em conta a semelhança nos tempos de retenção e dos m/z principais, podemos aferir que são realmente os mesmos compostos e que permanecem na amostra mesmo depois de queimados.

Tabela 9: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Caramba”, identificados pela biblioteca swgdrug, encontrados igualmente na amostra filtrada.

Nome	Tempo de retenção (min)	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo	10.069		869/900
Ácido oleico	11.212		763/800
Estearato de metilo	11.366		885/917
Ftalato de Dioctilo	13.697		964/964
JWH-122 6-metilnaftil isómero	20.526		849/912
JWH-210 3-etilnaftil isómero	21.437		800/862

“ESFINGE”

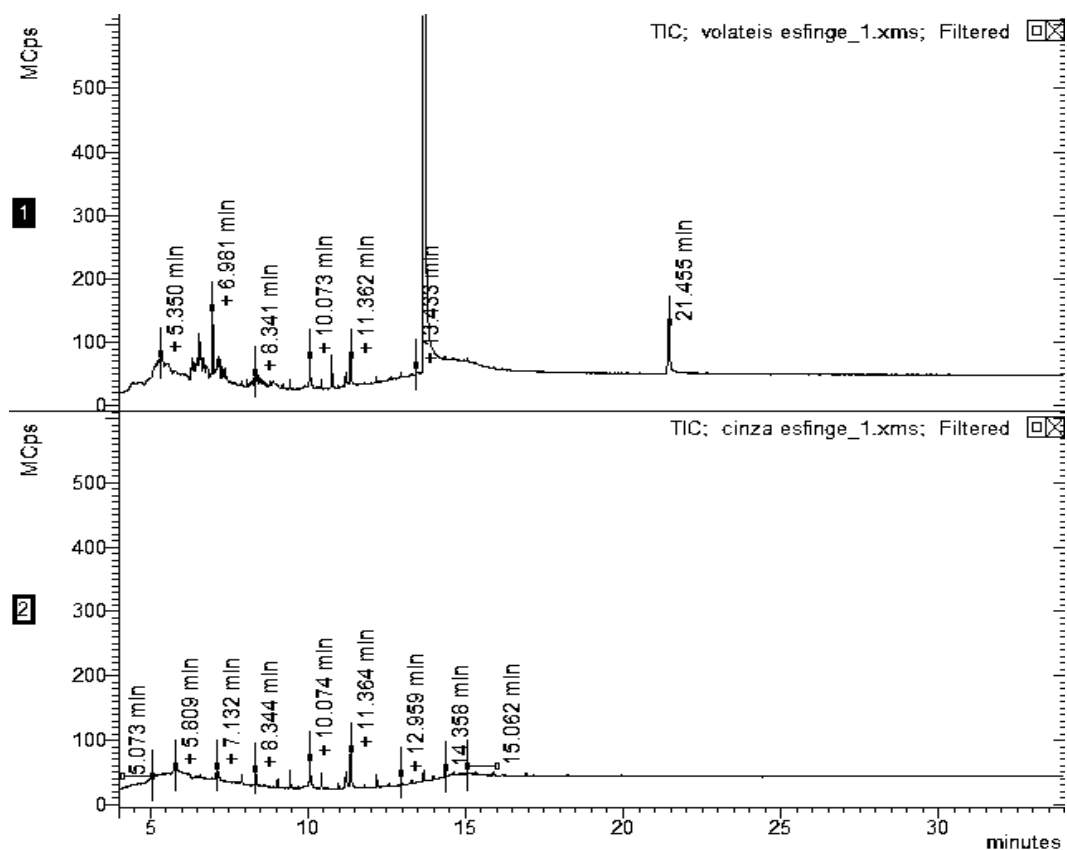
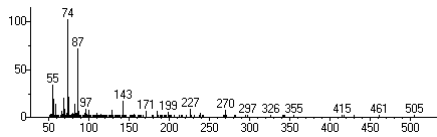
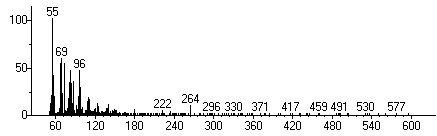
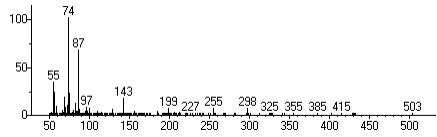
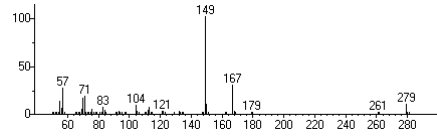
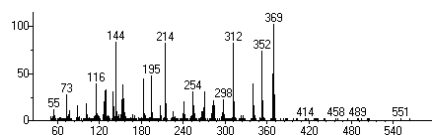


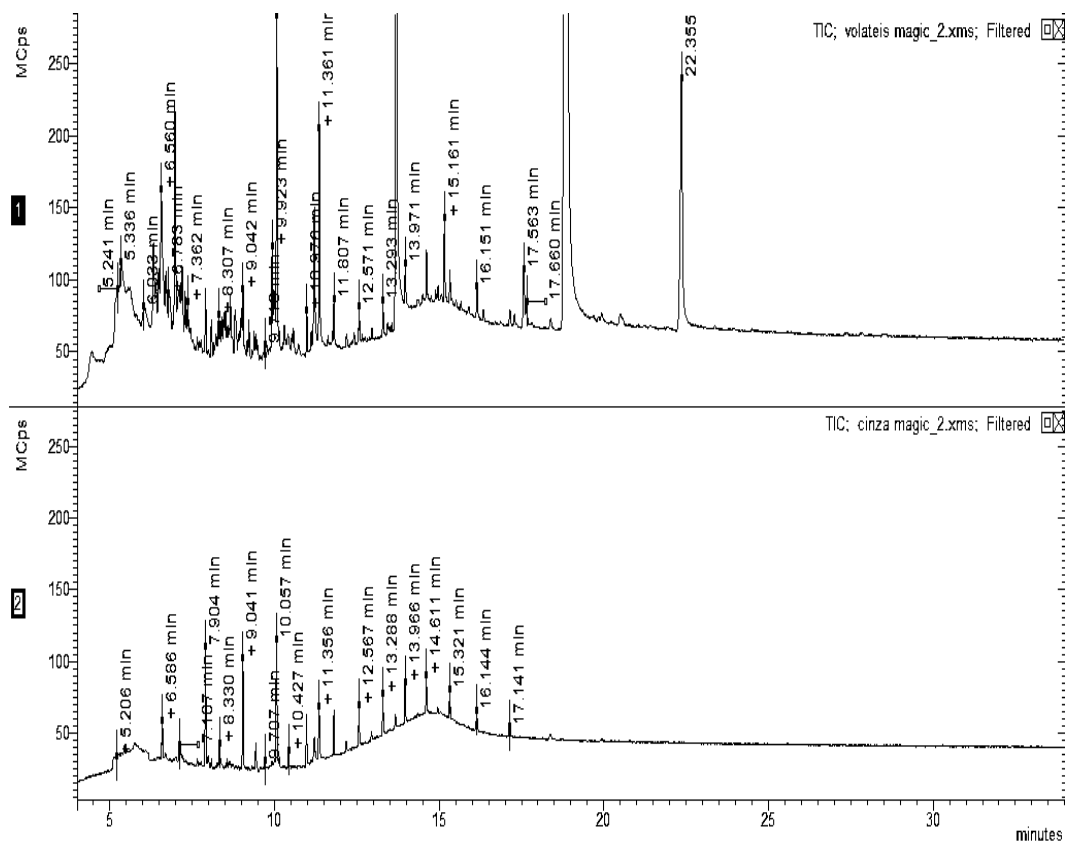
Figura 15: Cromatogramas do extrato metanólico do resultado da pirólise de 10 minutos por técnica de “blazing” da amostra comercial “Esfinge”: 1) voláteis; 2) cinzas.

A figura 15 representa os cromatogramas obtidos por análise de GC-MS dos voláteis e cinzas, respetivamente, da amostra comercial “Esfinge”. Na tabela 10, estão identificados os picos que foram igualmente encontrados no cromatograma da amostra comercial filtrada. Tendo em conta a semelhança nos tempos de retenção e dos m/z principais, podemos aferir que são realmente os mesmos compostos e que permanecem na amostra mesmo depois de queimados.

Tabela 10: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Esfinje”, identificados pela biblioteca swgdrug, encontrados igualmente na amostra filtrada.

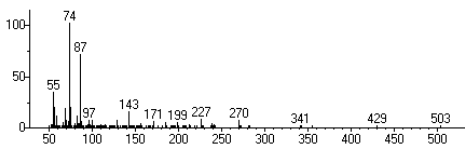
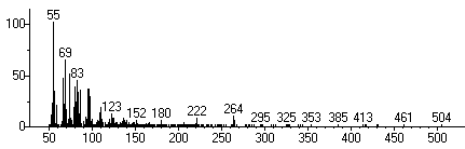
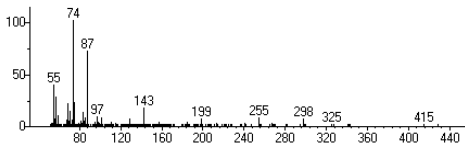
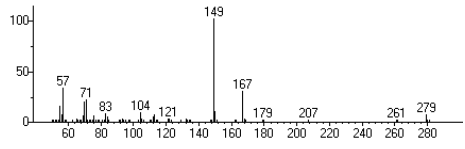
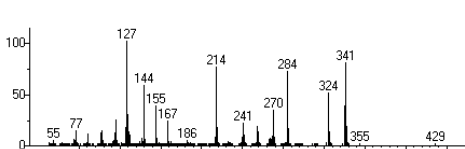
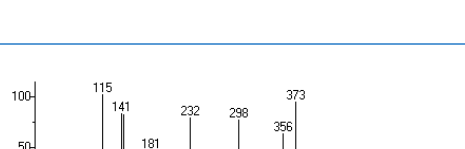
Nome	Tempo de retenção (min)	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo	10.069		877/949
Ácido oleico	11.212		783/813
Estearato de metilo	11.366		871/906
Ftalato de dioctilo	13.690		957/957
JWH-210 3-etilnaftil isómero	21.437		879/919

“MAGIC”

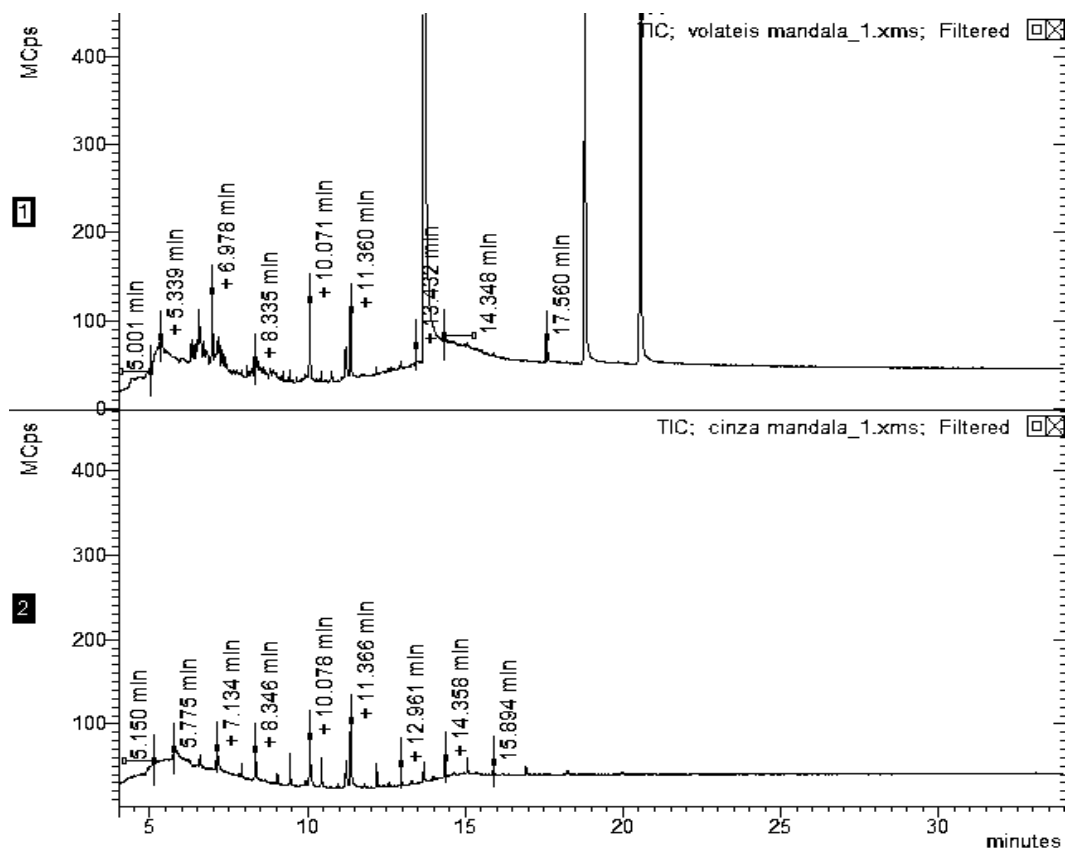


A figura 16 representa os cromatogramas GC-MS dos extratos metanólicos dos voláteis e cinzas, respetivamente, da amostra comercial “Magic”. Na tabela 11, estão identificados os compostos que foram igualmente encontrados no cromatograma do extrato da amostra comercial filtrada. Tendo em conta a semelhança nos tempos de retenção e dos m/z principais, podemos aferir que são realmente os mesmos compostos e que permanecem na amostra mesmo depois de queimados.

Tabela 11: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Magic”, identificados pela biblioteca swgdrug, encontrados igualmente na amostra filtrada.

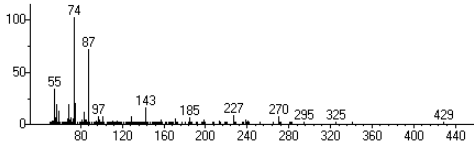
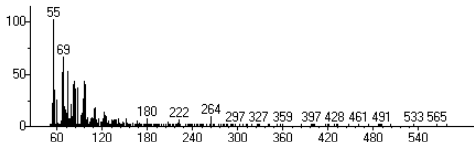
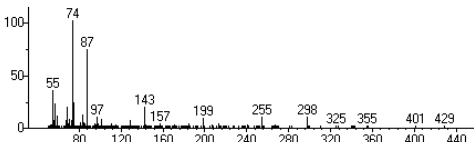
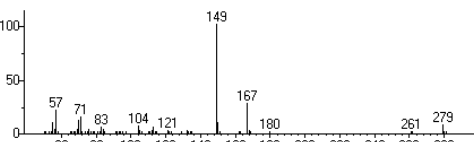
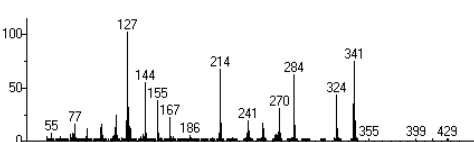
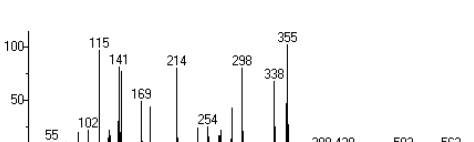
Nome	Tempo de retenção (min)	Espectro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo	10.075		884/952
Ácido oleico	11.211		831/848
Estearato de metilo	11.365		883/904
Ftalato de dioctilo	13.686		953/953
JWH-018 N-3-metilbutil isómero	18.848		915/918
MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero	22.357		889/921

“MANDALA”



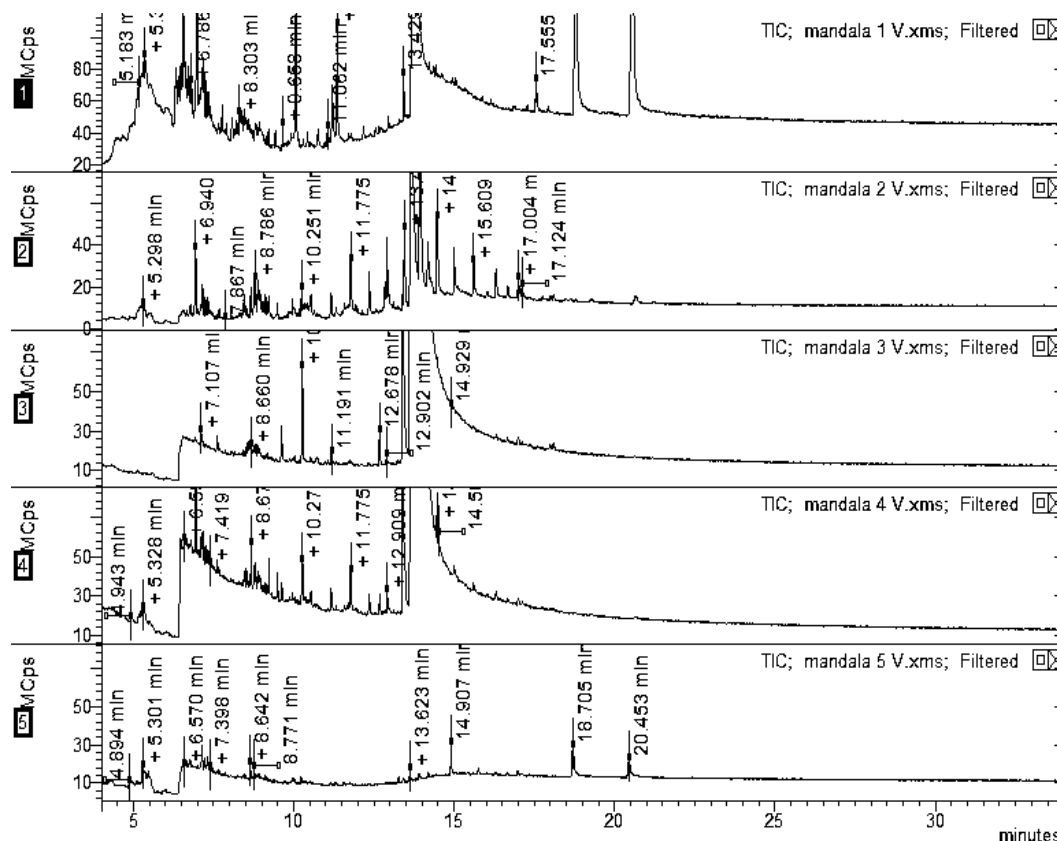
A figura 17 representa os cromatogramas GC-MS dos extratos metanólicos dos voláteis e cinzas, respetivamente, da amostra comercial “Mandala”. Na tabela 12, estão identificados os picos com compostos que foram igualmente encontrados no cromatograma da amostra comercial filtrada. Tendo em conta a semelhança nos tempos de retenção e dos m/z principais, podemos aferir que são realmente os mesmos compostos e que permanecem na amostra mesmo depois de queimados.

Tabela 12: Picos cromatográficos dos compostos voláteis do extrato metanólico da amostra comercial “Mandala”, identificados pela biblioteca swgdrug, encontrados igualmente na amostra filtrada.

Nome	Tempo de retenção	Espetro de massa	Match/R. Match
Palmitato de metilo	10.072 min		900/959
Ácido oleico	11.209 min		796/826
Estearato de metilo	11.356 min		891/916
Ftalato de dioctilo	13.700 min		960/960
JWH-018 N-3-metilbutil isómero	13.697 min		909/913
JWH-122 6-metilnaftil isómero	20.553 min		903/942

2.1. Ressuspensão dos voláteis em diferentes solventes

De modo a determinar qual o melhor solvente para analisar, por GC-MS, os compostos voláteis formados ao fim de 10 minutos de pirólise, foram utilizadas 5 condições diferentes para a amostra comercial “Mandala”.

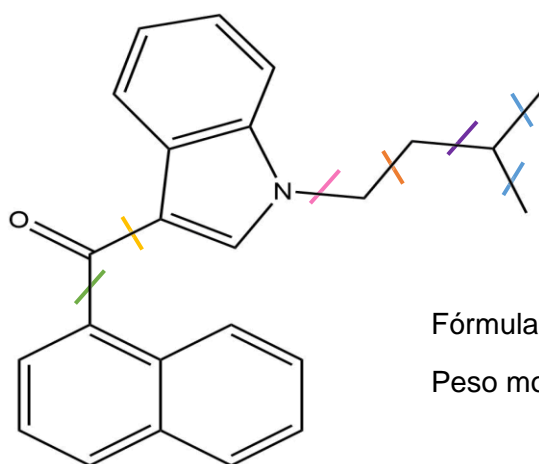


Como podemos ver pela figura 18, os cromatogramas 2, 3 e 4 não apresentam os picos para os CBS que esperávamos encontrar nas amostras, por isso foram logo à partida eliminados. Ficaram, então, o metanol (HPLC Grade) e o acetato de etilo (HPLC Grade), que já era esperado tendo em conta a literatura. Uma vez que os picos do cromatograma 1 são maiores que os do cromatograma 5, com valores de match e reverse match também maiores, e o cromatograma 1 tem um maior número de picos, o solvente selecionado para o resto das análises de GC-MS foi o metanol (HPLC Grade).

2.2. Simulação das quebras da molécula para determinação de produtos da pirólise

Tal como foi referido acima, existem diversos processos que ocorrem durante a queima das amostras comerciais. Um dos processos é a formação de novas substâncias, causada pela decomposição de algumas das substâncias presentes na amostra, nomeadamente os CBS. De modo a tentar determinar a existência desses produtos, cada pico cromatográfico foi analisado de acordo com as possíveis quebras mais fracas das moléculas de CBS (53).

JWH-018 N-3-METILBUTIL ISÓMERO



Fórmula química: $C_{24}H_{23}NO$

Peso molecular: 341,17

Cada traço na estrutura (figura 19) representa onde as quebras podem possivelmente ocorrer na molécula inicial do canabinóides sintético JWH-018 N-3-metilbutil isómero. Na tabela 13, estão reunidos os dados sobre as moléculas que resultam dessas quebras com o respetivo peso molecular.

Tabela 13: Estruturas moleculares resultantes e respectivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-018 N-3-metilbutil isómero.

Número da Quebra	Molécula resultante (1)	Peso molecular (1)	Molécula resultante (2)	Peso molecular (2)
1	$C_{23}H_{20}NO^{\bullet}$	326,41	CH_3^{\bullet}	15,03
2	$C_{21}H_{16}NO^{\bullet}$	298,36	$C_3H_7^{\bullet}$	43,09
3	$C_{20}H_{14}NO^{\bullet}$	284,33	$C_4H_9^{\bullet}$	57,11
4	$C_{19}H_{12}NO^{\bullet}$	270,30	$C_5H_{11}^{\bullet}$	71,14
5	$C_{11}H_7O^{\bullet}$	155,17	$C_{13}H_{16}N^{\bullet}$	186,27
6	$C_{10}H_7^{\bullet}$	127,16	$C_{14}H_{16}NO^{\bullet}$	214,28

O estudo destes possíveis produtos da pirólise dos CBS foi efetuado analisando os cromatogramas da pirólise de 10 minutos. Com os pesos moleculares das moléculas resultantes das possíveis quebras, tentou-se encontrar m/z coincidentes que pudessem ser um produto da pirólise da molécula inicial.


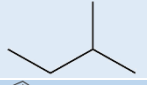
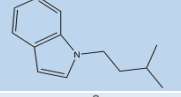
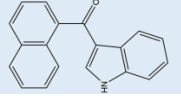

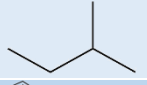
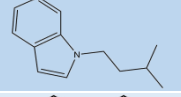
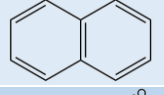
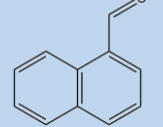
Duas amostras comerciais tinham este CBS em comum. Cada pico representado na tabela 14 corresponde a m/z coincidentes. Por exemplo, os picos 1, 2 e 3 da amostra comercial “Magic” (figura 16) e os picos 1, 2, 3 e 4 da amostra comercial “Mandala” (figura 17) correspondem a um composto que tem dois m/z (71, 57) que podem ser um resultado da quebra 3 ou 4 do canabinóides sintético (figura 18).

Tabela 14: Possíveis produtos da pirólise de JWH-018 N-3-metilbutil isómero.

	Número do pico	Tempo de retenção/minutos	m/z do composto desconhecido	Número da quebra
MAGIC	1	6.706	71, 57	3, 4
	2	7.197	71, 57	3, 4
	3	7.359	71, 57	3, 4
	5	8.662	74, 87, 55, 93, 186	5
	6	17.274	144, 270, 271	4
MANDALA	1	5.516	71, 57	3, 4
	2	6.617	71, 57	3, 4
	3	6.702	71, 57	3, 4
	4	7.197	71, 57	3, 4
	5	8.657	74, 87, 93, 55, 186	5
	6	10.778	163, 55, 172, 70, 149, 127, 57, 77, 155	5, 6
	7	17.270	144, 270	4

Com estes resultados, foi possível obter as estruturas químicas das moléculas que podem estar presentes na análise por GC-MS da pirólise de JWH-018 N-3-metilbutil isómero (tabela 15).

Tabela 15: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero e os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.

	Nome	Fórmula química	Estrutura química
MAGIC	isobutano	C ₄ H ₁₀	
	isopentano	C ₅ H ₁₂	
	1-isopentil-1H-indol	C ₁₃ H ₁₇ N	
	1H-indol-3-il(1-naftalenil)metanona	C ₁₉ H ₁₃ NO	
MANDALA	isobutano	C ₄ H ₁₀	
	isopentano	C ₅ H ₁₂	
	1-isopentil-1H-indol	C ₁₃ H ₁₇ N	
	naftaleno	C ₁₀ H ₈	
	naftal	C ₁₁ H ₈ O	

JWH-122 6-METILNAFTIL ISÓMERO

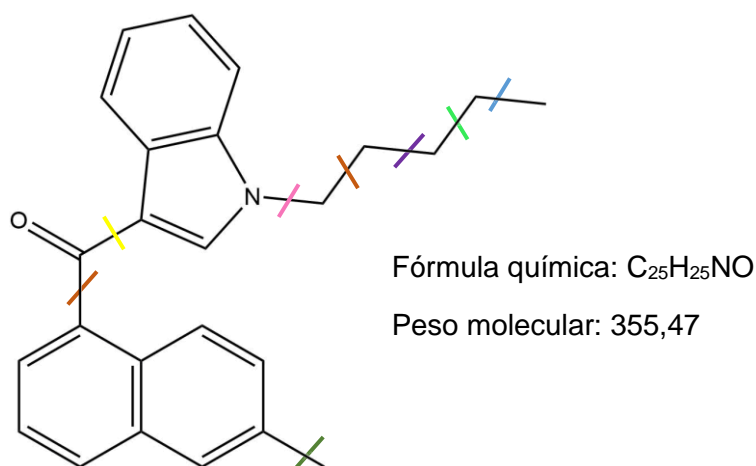


Figura 20: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-122 6-metilnaftil isómero.

Cada traço na estrutura (figura 20) representa onde as quebras podem possivelmente dividir a molécula na molécula inicial do canabinóides sintético JWH-122 6-metilnaftil isómero. Na tabela 16, estão reunidos os dados sobre que moléculas resultam dessas quebras com o respetivo peso molecular.

Tabela 16: Estruturas moleculares resultantes e respetivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-122 6-metilnaftil isómero.

Número da Quebra	Molécula resultante (1)	Peso molecular (1)	Molécula resultante (2)	Peso molecular (2)
1	$C_{24}H_{22}NO^{\bullet}$	340,17	CH_3^{\bullet}	15,03
2	$C_{23}H_{20}NO^{\bullet}$	326,41	$C_2H_5^{\bullet}$	29,04
3	$C_{22}H_{18}NO^{\bullet}$	312,14	$C_3H_7^{\bullet}$	43,09
4	$C_{21}H_{16}NO^{\bullet}$	298,36	$C_4H_9^{\bullet}$	57,11
5	$C_{20}H_{14}NO^{\bullet}$	284,33	$C_5H_{11}^{\bullet}$	71,14
6	$C_{12}H_9O^{\bullet}$	169,20	$C_{13}H_{16}N^{\bullet}$	186,27
7	$C_{11}H_9^{\bullet}$	141,19	$C_{14}H_{16}NO^{\bullet}$	214,28
8	$C_{24}H_{22}NO^{\bullet}$	340,44	CH_3^{\bullet}	15,03

O estudo destes possíveis produtos da pirólise dos CBS foi efetuado com os cromatogramas da pirólise de 10 minutos. Com os pesos moleculares das moléculas resultantes das possíveis quebras, tentou-se encontrar m/z coincidentes que pudessem ser um produto da pirólise da molécula inicial.



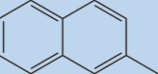
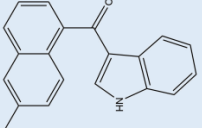


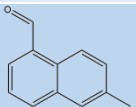
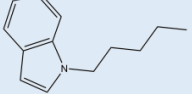
Duas amostras comerciais tinham este CBS em comum. Cada pico representado na tabela 17 corresponde a m/z coincidentes. Por exemplo, os picos 1, 3, 4, 5 e 6 da amostra comercial “Caramba” (figura 14) e os picos 1, 2, 3 e 4 da amostra comercial “Mandala” (figura 17) correspondem a um composto que tem dois m/z (71, 57) que podem ser um resultado da quebra 4 ou 5 do CBS (figura 19).

Tabela 17: Possíveis produtos da pirólise de JWH-122 6-metilnaftil isómero.

	Número do pico	Tempo de retenção/minutos	m/z do composto desconhecido	Número da quebra
CARAMBA	1	5.361	57, 69, 71	4, 5
	2	6.188	91, 133, 141, 120	7
	3	6.553	59, 71, 69, 57	4, 5
	4	6.708	71, 57, 85, 69	4, 5
	5	7.196	71, 57, 85, 69	4, 5
	6	9.215	71, 57, 85, 55	4, 5
	7	18.766	127, 214, 341, 144, 284	5
MANDALA	1	5.516	71, 57	4, 5
	2	6.617	71, 57	4, 5
	3	6.702	71, 57	4, 5
	4	7.197	71, 57	4, 5
	5	8.657	74, 87, 93, 55, 186	6
	6	9.9096	141, 169	6

Com estes resultados, foi possível obter as estruturas químicas das moléculas que podem estar presentes na análise por GC-MS da pirólise de JWH-122 6-metilnaftil isómero (tabela 18).

Tabela 18: Compostos resultantes das possíveis quebras do canabinóides sintético JWH-122 6-metilnaftil isómero e os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.

	Nome	Fórmula química	Estrutura química
CARAMBA	butano	C_4H_{10}	
	propano	C_5H_{12}	
	2-metilnaftaleno	$C_{11}H_{10}$	
	(1H-indol-3-il)(6-metilnaftalen-1-il)metanona	$C_{20}H_{15}NO$	
MANDALA	butano	C_4H_{10}	
	propano	C_5H_{12}	
	6-metil-1-naftaldeído	$C_{12}H_{10}O$	
	1-pentil-1H-indol	$C_{13}H_{17}N$	

JWH-210 3-ETILNAFTIL ISÓMERO

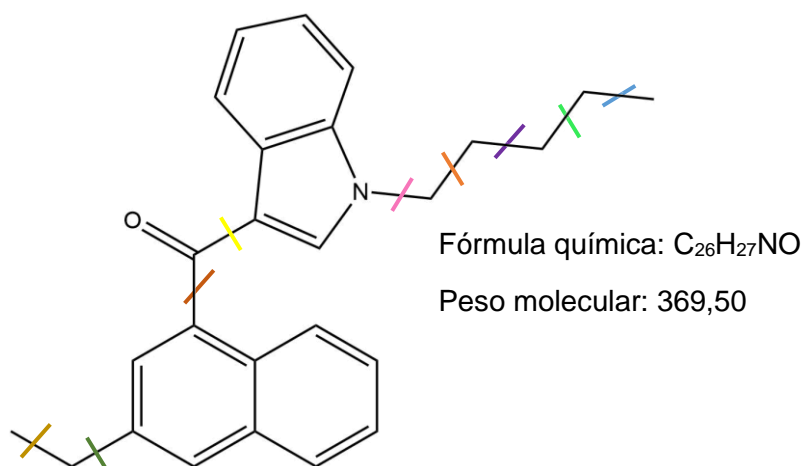


Figura 21: Representação das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-210 3-etilnaftil isômero.

Cada traço na estrutura (figura 21) representa onde as quebras podem possivelmente dividir a molécula na molécula inicial do canabinóides sintético JWH-210 3-etilnaftil isômero. Na tabela 19, estão reunidos os dados sobre as estruturas químicas que resultam dessas quebras com o respetivo peso molecular.

Tabela 19: Estruturas moleculares resultantes e respetivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto JWH-210 3-etilnaftil isômero.

Número da Quebra	Molécula resultante (1)	Peso molecular (1)	Molécula resultante (2)	Peso molecular (2)
1	$C_{25}H_{24}NO^{\bullet}$	354,46	CH_3^{\bullet}	15,03
2	$C_{24}H_{22}NO^{\bullet}$	340,44	$C_2H_5^{\bullet}$	29,04
3	$C_{23}H_{20}NO^{\bullet}$	326,41	$C_3H_7^{\bullet}$	43,09
4	$C_{22}H_{18}NO^{\bullet}$	312,38	$C_4H_9^{\bullet}$	57,11
5	$C_{21}H_{16}NO^{\bullet}$	298,36	$C_5H_{11}^{\bullet}$	71,14
6	$C_{13}H_{11}O^{\bullet}$	183,23	$C_{13}H_{16}N^{\bullet}$	186,27
7	$C_{12}H_{13}^{\bullet}$	157,23	$C_{14}H_{16}NO^{\bullet}$	214,28
8	CH_3^{\bullet}	15,03	$C_{25}H_{24}NO^{\bullet}$	354,26
9	$C_2H_5^{\bullet}$	29,04	$C_{24}H_{22}NO^{\bullet}$	340,44

O estudo destes possíveis produtos da pirólise dos CBS foi efetuado com os cromatogramas da pirólise de 10 minutos. Com os pesos moleculares das moléculas resultantes das possíveis quebras, tentou-se encontrar m/z coincidentes que pudessem ser um produto da pirólise da molécula inicial.

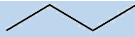
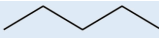
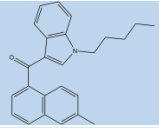
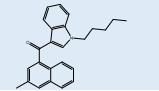
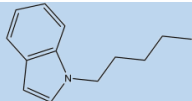
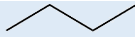
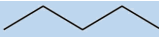
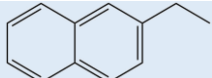
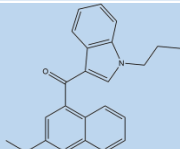
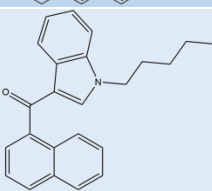
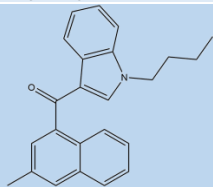
Duas amostras comerciais tinham este CBS em comum. Cada pico representado na tabela 20 corresponde a m/z coincidentes. Por exemplo, os picos 1, 2, 3, 4 e 5 da amostra comercial “Caramba” (figura 14) e os picos 1, 2, e 3 da amostra comercial “Esfinge” (figura 15) correspondem a um composto que tem dois m/z (71, 57) que podem ser um resultado da quebra 4 ou 5 do canabinóides sintético (figura 20).

Tabela 20: Possíveis produtos da pirólise de JWH-210 3-etilnaftil isómero.

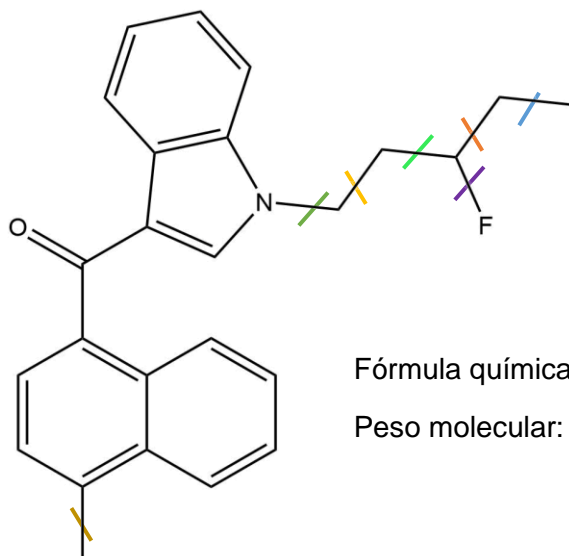
	Número do pico	Tempo de retenção/minutos	m/z do composto desconhecido	Número da quebra
CARAMBA	1	5.361	57, 69, 71	4, 5
	2	6.553	59, 71, 69, 57	4, 5
	3	6.708	71, 57, 85, 69	4, 5
	4	7.196	71, 57, 85, 69	4, 5
	5	9.215	71, 57, 85, 55	4, 5
	6	12.663	57, 339, 395, 410, 283, 190, 77, 354	1, 8
	7	15.109	73, 183, 207	6
ESFINGE	1	5.526	71, 57, 85, 91	4, 5
	2	7.367	71, 57, 85, 69	4, 5
	3	8.341	57, 59, 69, 71	4, 5
	4	8.690	59, 119, 149, 157	7
	5	8.830	57, 71, 85, 69	4, 5
	6	20.513	282, 281, 96, 61, 340	2, 9

Com estes resultados, foi possível obter as estruturas químicas das moléculas que podem estar presentes na análise por GC-MS da pirólise de JWH-210 3-etilnaftil isómero (tabela 21).

Tabela 21: Compostos resultantes das possíveis quebras do canabinóides sintético JWH-210 3-etilnaftil isómero com os m/z encontrados na análise das amostras comerciais.

	Nome	Fórmula química	Estrutura química
CARAMBA	butano	C ₄ H ₁₀	
	propano	C ₅ H ₁₂	
	(3-metilnaftalen-1-il)(1-pentiyl-1H-indol-3-il)metanona	C ₂₅ H ₂₅ NO	
	(1-butil-1H-indol-3-il)(3-etilnaftalen-1-il)metanona	C ₂₅ H ₂₅ NO	
	3-etil-1-naftaldeído	C ₁₃ H ₁₂ N	
ESFINGE	butano	C ₄ H ₁₀	
	propano	C ₅ H ₁₂	
	2-etilnaftaleno	C ₁₂ H ₁₄	
	(3-etolnaftalen-1-il)(1-propil-1H-indol-3-il)metanona	C ₂₄ H ₂₃ NO	
	naftalen-1-il(1-pentil-1H-indol-3-il)metanona	C ₂₄ H ₂₃ NO	
	(1-butil-1H-indol-3-il)(3-metilnaftalen-1-il)metanona	C ₂₄ H ₂₃ NO	

MAM2201 N-(3-FLUOROPENTIL) ISÓMERO



Fórmula química: $C_{24}H_{23}NO$

Peso molecular: 341.17

Cada traço na estrutura (figura 22) representa onde as quebras podem possivelmente dividir a molécula na molécula inicial do canabinóides sintético MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero. Na tabela 22, estão reunidos os dados sobre que estruturas químicas resultam dessas quebras com o respetivo peso molecular.

Tabela 22: Estruturas moleculares resultantes e respetivos pesos moleculares das possíveis quebras que podem ocorrer durante a pirólise do composto MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero.

Número da Quebra	Molécula resultante (1)	Peso molecular (1)	Molécula resultante (2)	Peso molecular (2)
1	$C_{24}H_{21}FNO^{\bullet}$	358,43	CH_3^{\bullet}	15,03
2	$C_{23}H_{19}FNO^{\bullet}$	344,40	$C_2H_5^{\bullet}$	29,04
3	$C_{22}H_{20}NO^{\bullet}$	314,40	F^{\bullet}	19,00
4	$C_{22}H_{18}NO^{\bullet}$	312,38	$C_3H_6F^{\bullet}$	61,08
5	$C_{21}H_{16}NO^{\bullet}$	298,36	$C_4H_8F^{\bullet}$	75,10
6	$C_{21}H_{16}NO^{\bullet}$	298,36	$C_5H_{10}F^{\bullet}$	89,13
7	$C_{12}H_9O^{\bullet}$	169,20	$C_{13}H_{15}FN^{\bullet}$	204,26
8	$C_{11}H_9^{\bullet}$	141,19	$C_{14}H_{15}FNO^{\bullet}$	232,27
9	$C_{24}H_{21}FNO^{\bullet}$	358,43	CH_3^{\bullet}	15,03

O estudo destes possíveis produtos da pirólise dos CBS foi efetuado com os cromatogramas da pirólise de 10 minutos. Com os pesos moleculares das moléculas resultantes das possíveis quebras, tentou-se encontrar m/z coincidentes que pudessem ser um produto da pirólise da molécula inicial.

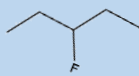
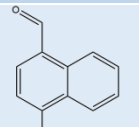
Duas amostras comerciais tinham este CBS em comum. Cada pico representado na tabela 23 corresponde a m/z coincidentes. Por exemplo, os picos 1, 2 e 3 da amostra comercial “Magic” (figura 16) correspondem a um composto que tem dois m/z (71, 57) que podem ser um resultado da quebra 4 ou 5 do canabinóides sintético MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero (figura 21).

Tabela 23: Possíveis produtos da pirólise de MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero.

	Número do pico	Tempo de retenção/minutos	m/z do composto desconhecido	Número da quebra
MAGIC	1	6.022	117, 145, 90, 89	6
	2	10.672	183, 253, 71, 169	7

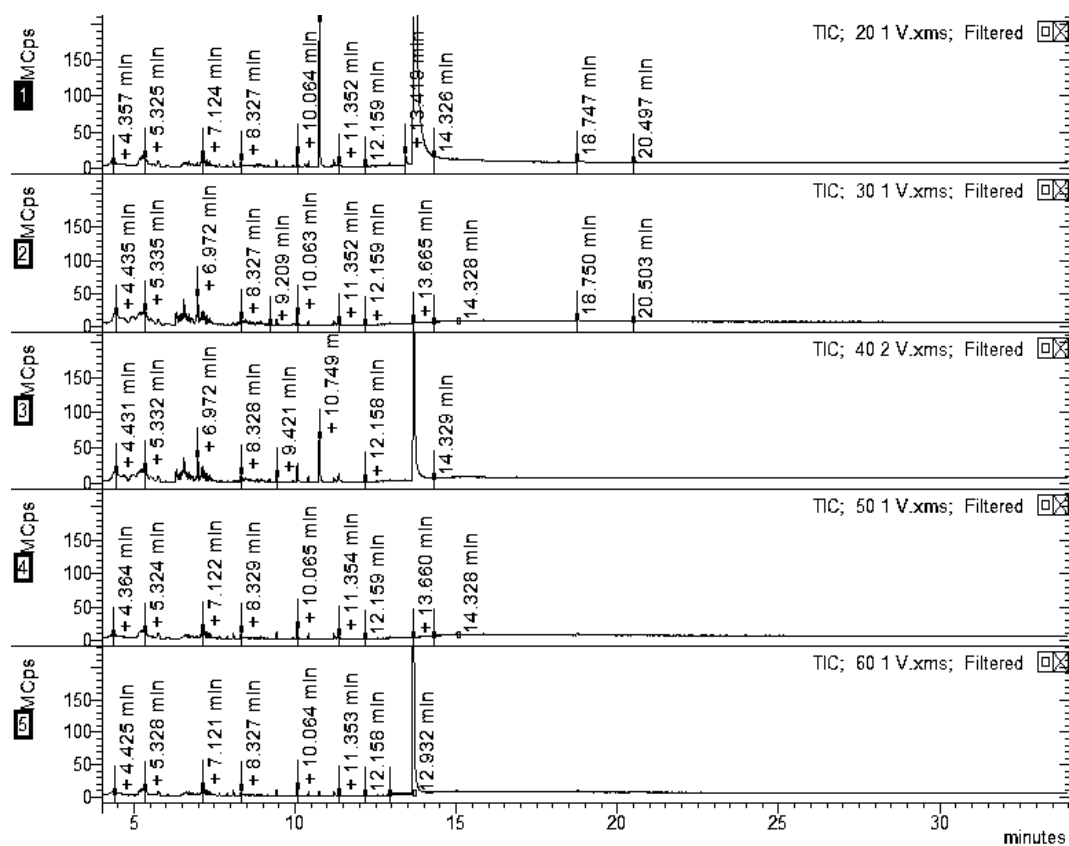
Com estes resultados, foi possível obter as estruturas químicas das moléculas que podem estar presentes na análise por GC-MS da pirólise MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero (tabela 24).

Tabela 24: Compostos resultantes das possíveis quebras do CBS MAM2201 N-(3-fluoropentil) isómero e os m/z encontrados na análise da amostra comercial.

	Nome	Fórmula química	Estrutura química
MAGIC	3-fluoropentano	C ₅ H ₁₁ F	
	4-metil-1-naftaldeído	C ₁₂ H ₁₀ O	

2.3. Cinética da pirólise das amostras comerciais

Uma vez que, após uma pirólise de 10 minutos, os compostos voláteis dos CBS permaneceram numa quantidade considerável, foi decidido analisar os compostos formados quando o produto comercial era queimado durante mais tempo. Sendo assim, foram queimadas amostras comerciais “Mandala” por técnica de “blazing” durante 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, de modo a determinar a quantidade de canabinóide que permanece na amostra durante uma queima continuada.



Numa primeira análise aos cromatogramas resultantes (figura 23), podemos ver que, com o aumento do tempo de queima, foram desaparecendo gradualmente os picos referentes aos CBS presentes na amostra comercial “Mandala”, anteriormente identificados. Foram calculadas as áreas dos picos (tabela 25), permitindo determinar o que acontece com o aumento de tempo da pirólise, sendo depois representadas na figura 24.

Tabela 25: Áreas dos picos cromatográficos dos compostos voláteis dos canabinóides sintéticos resultantes da pirólise da amostra comercial “Mandala” durante: 1) 0 minutos; 2) 10 minutos; 20 minutos; 3) 30 minutos; 4) 40 minutos; 5) 50 minutos; 6) 60 minutos.

	Duração da pirólise (min)	Área do pico
JWH-018 N-3-metilbutil isómero	0	$1,227 \times 10^9$
	10	$1,203 \times 10^9 \pm 4,465 \times 10^8$
	20	$2,753 \times 10^7 \pm 1,425 \times 10^7$
	30	$2,728 \times 10^7 \pm 1,473 \times 10^7$
	40	$2,682 \times 10^7 \pm 2,966 \times 10^7$
	50	$1,588 \times 10^7 \pm 3,730 \times 10^6$
	60	$1,433 \times 10^7 \pm 4,311 \times 10^6$
JWH-122 6-metilnaftil isómero	0	$1,179 \times 10^9$
	10	$1,164 \times 10^9 \pm 5,252 \times 10^8$
	20	$1,511 \times 10^7 \pm 9,874 \times 10^6$
	30	$1,485 \times 10^7 \pm 9,199 \times 10^6$
	40	$1,221 \times 10^7 \pm 1,500 \times 10^7$
	50	$8,480 \times 10^6 \pm 8,930 \times 10^5$
	60	$6,184 \times 10^6 \pm 2,663 \times 10^6$

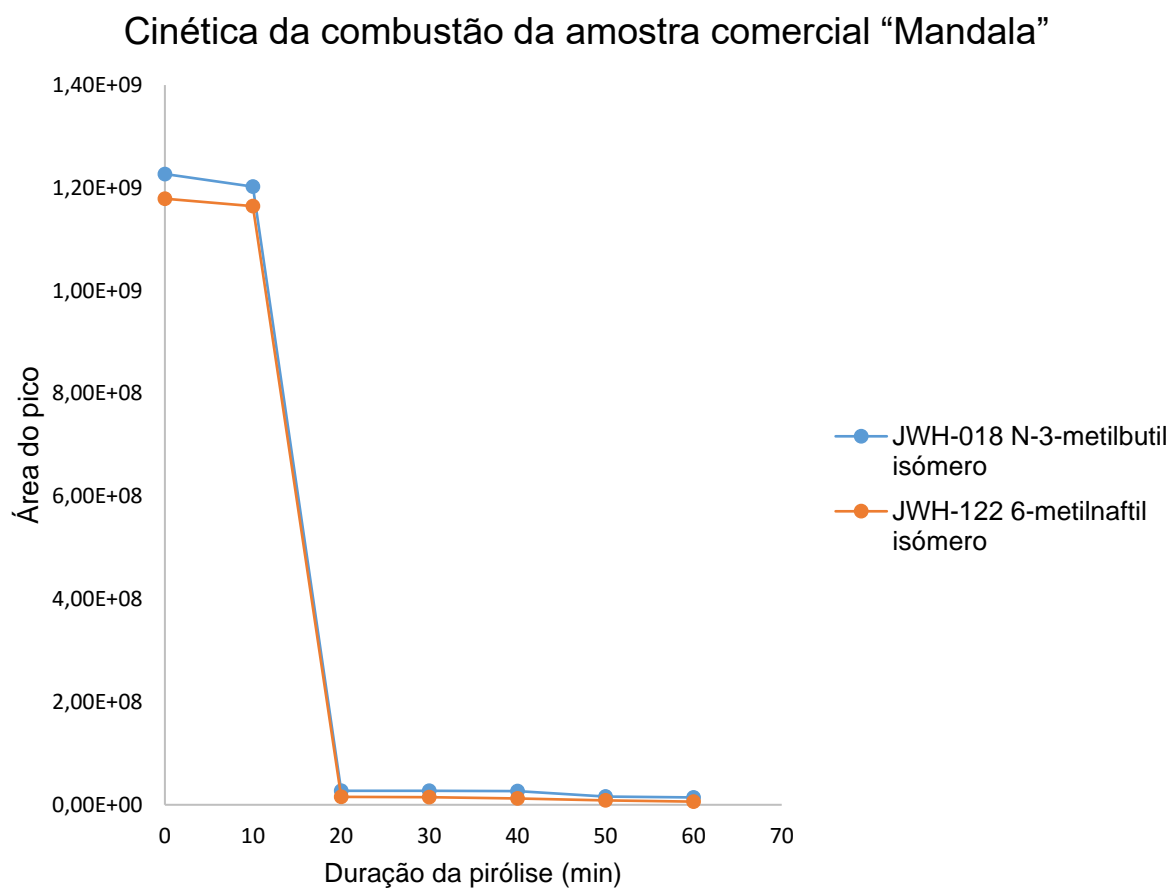


Figura 24: Gráfico representativo do comportamento da área dos CBS da amostra comercial “Mandala” com o aumento da duração da pirólise por técnica de “blazing”.

Capítulo 4

Com a intenção de reproduzir os acontecimentos que ocorrem quando os CBS são fumados, foi desenvolvida uma técnica para fazer a combustão das amostras comerciais e recolher posteriormente os voláteis libertados num cartucho SPE. Foram determinados os compostos que permaneciam (resistentes à temperatura de queima) e estudada a existência de outros produtos provenientes das possíveis quebras causadas pela pirólise dos canabinóides sintéticas.

Numa primeira fase, fez-se uma análise às amostras comerciais antes de serem queimadas. Duas embalagens vinham com as plantas descritas na mistura, a “Caramba” e a “Magic”, e ambas indicavam a presença de aroma. Só a planta *Nymphaea caerulea* tinha a fonte psicoativa documentada, o alcaloide apomorfina (54,55). As restantes são muito utilizadas em misturas, mas não têm os seus compostos psicoativos caracterizados nem a toxicidade (tabela 26).

Tabela 26: Características psicoativas conhecidas das plantas presentes nas misturas de ervas das amostras comerciais “Caramba” e “Magic”.

Nome	Efeito
<i>Leonotis leonurus</i>	Utilizado como substituto legal de plantas psicoativas proibidas. Produz um efeito eufórico suave quando fumado e tem efeitos psicoaticos similares, mas menos potentes, que a <i>cannabis</i> (56,57).
<i>Cestrum nocturnum</i>	Efeitos halucinogénios. Tóxica, causa danos no sistema respiratório quando inalada e sintomas febris quando ingerida (56).
<i>Leonurus sibiricus</i>	Conhecida como “marihuanilla” (pequena marijuana). Efeitos semelhantes à marijuana, mas com menos intensidade (58).
<i>Turnera diffusa</i>	Efeitos psicoativos e estimulantes (59).
<i>Canavalia rosea</i>	Alucinogénia. Componente da droga “Frijol de playa” (56).
<i>Nymphaea caerulea</i>	Contém a substância psicoativa apomorfina.

Em todos os cromatogramas dos extratos metanólicos das amostras foram encontrados vários picos que posteriormente foram identificados com a biblioteca *swgdrug*. Os mesmos compostos foram encontrados nas 4 amostras: ácidos gordos metilados (palmitato de metilo e estereato de metilo), ácido oleico (menos na “Caramba”) e ftalato de dioctilo. Como já tinha sido referido no capítulo 1, os ácidos gordos são compostos de origem vegetal e já se

esperava serem encontrados na mistura de ervas. No entanto, na literatura ainda não tinha sido descrita a presença de ftalatos nas amostras de CBS.

Seguidamente, as amostras foram queimadas por intermédio da técnica de “blazing” referida no capítulo 2. Quanto aos compostos já anteriormente identificados, estes mesmos foram encontrados na amostra pirolisada por 10 minutos. Isto implica que o consumidor, para além dos CBS, inala também o palmitato de metilo, o estereato de metilo, o ácido oleico e o ftalato de dioctilo, entre outros não identificados. A gravidade dos efeitos que o consumo destes compostos pode causar no indivíduo é difícil de prever, uma vez que a sua concentração é indefinida, mas não deixa de ser importante reconhecer o que o seu consumo pode causar (tabela 27).

Tabela 27: Origem, efeitos e toxicidade dos compostos identificados após a pirólise.

Composto	Origem	Efeito	Toxicidade
Ácido oleico	Produtos naturais	Irritação dos olhos e pele	-
Ftalato de dioctilo	Embalagem	Fortemente irritante para os olhos, nariz, garganta e pele. Pode causar tonturas, náuseas, dores de cabeça, dores, fraqueza, dormência, espasmos nas pernas e braços e disfunção vestibular. Quando inalado, pode causar alergias, sintomas asmáticos ou dificuldades respiratórias.	Baixa toxicidade sistémica, mas a ingestão de grandes doses causa irritação gastrointestinal, depressão do sistema nervoso central, coma e hipotensão. Pode afetar a fertilidade ou o feto (60,61)
Estereato de metilo	Produtos naturais	Irritante da pele, olhos e trato respiratório. Pode causar sérios danos nos olhos.	Emite fumos tóxicos quando aquecido até à decomposição (62)
Palmitato de metilo	Produtos naturais	Pode irritar seriamente a pele, olhos e trato respiratório	-

Tanto os compostos provenientes das plantas como os adicionados não apresentam uma toxicidade muito forte. A surpresa na análise foi a presença do ftalato de dioctilo em todas as amostras, mesmo depois da pirólise, pois não estava documentada nas análises a CBS. Todavia, entende-se a deteção deste composto, pois os ftalatos são plastificantes muito utilizados, principalmente o ftalato de dioctilo, sendo que estes não estão ligados

quimicamente ao polímero da embalagem, conseguindo migrar para a amostra comercial. Este composto, quando ingerido em grandes quantidades, pode levar ao coma, infertilidade e morte do feto (60,61). Portanto, também o embalamento dos produtos comerciais pode contribuir com compostos que, quando inalados, são altamente tóxicos para o ser humano. Considerando esta deteção, analisar as embalagens, bem como quantificar os ftalatos com padrões e identificar que efeitos o consumo por inalação de ftalatos pode trazer ao indivíduo, poderá clarificar algumas lacunas no perfil toxicológico dos produtos comercializados (53).

Mesmo sabendo os pormenores dos efeitos psicoativos e toxicológicos dos compostos presentes na amostra comercial, isto não chega para prever o que pode acontecer quando estes produtos são consumidos. Além do mais, existem outros compostos que não foram detetados nesta análise por GC-MS. A aplicação de outras técnicas de deteção ou de separação, como NMR e LC acoplado por MS *tandem* poderão ajudar na identificação de outros constituintes das amostras que não foram detetados e que poderão contribuir para os efeitos psicoativos ou para os efeitos tóxicos.

De acordo com a análise feita ao conteúdo das quatro embalagens antes e depois da pirólise, foram encontrados quatro diferentes CBS:

- Na embalagem “Caramba”: os CBS JWH-122 6-metilnaftil isómero e JWH-210 3-etilnaftil isómero;
- Na embalagem “Esfinge”: o canabinóides sintético JWH-210 3-etilnaftil isómero;
- Na embalagem “Magic”: os CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero e o MAM2201 N-(3-fluoropentil);
- Na embalagem “Mandala”: os CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero e JWH-122 6-metilnaftil isómero.

A identificação foi feita de acordo com a biblioteca *swgdrug*. Uma vez que o número de isómeros para cada CBS tem vindo a aumentar, os critérios de seleção foram os valores de *match* e a comparação do *match* e *reverse match* (52). Uma análise por NMR posterior seria o ideal, pois só assim seria possível determinar com maior precisão qual o isómero pertencente na amostra comercial, em vez de basear a identificação só nos espectros de massa.

Com o intuito de encontrar produtos da pirólise destes compostos, realizou-se um estudo das possíveis quebras mais fracas que os compostos poderiam sofrer (53). De seguida, identificaram-se os possíveis produtos da pirólise que se poderiam encontrar nas amostras

comerciais. Sendo assim, foi realizada uma comparação dos m/z desses produtos da pirólise com os m/z dos picos cromatográficos dos cromatogramas das análises realizadas, que permitiu sugerir a identificação dos seguintes compostos voláteis:

- Na embalagem “Caramba”: butano (C_4H_{10}), propano (C_5H_{12}), 2-metilnaftaleno ($C_{11}H_{10}$) e (1*H*-indol-3-il)(6-metilnaftalen-1-il)metanona ($C_{20}H_{15}NO$), provenientes das quebras 4, 5, 7 e 5, respetivamente, do CBS JWH-122 6-metilnaftil isómero (tabela 16), e butano (C_4H_{10}), propano (C_5H_{12}), (3-metilnaftalen-1-il)(1-pentil-1*H*-indol-3-il)metanona ($C_{25}H_{25}NO$), 1-butil-3-((3-etilnaftalen-1-il)metil)-1*H*-indol ($C_{25}H_{25}NO$) e 1-pentil-1*H*-indol ($C_{13}H_{17}N$), provenientes das quebras 4, 5, 1, 8 e 6, respetivamente, do CBS JWH-210 3-etilnaftil isómero (tabela 21);
- Na embalagem “Esfinje”: butano (C_4H_{10}), propano (C_5H_{12}), 2-etilnaftaleno ($C_{12}H_{14}$), (3-etolnaftalen-1-il)(1-propil-1*H*-indol-3-il)metanona ($C_{24}H_{23}NO$), naftalen-1-il(1-pentil-1*H*-indol-3-il)metanona ($C_{24}H_{23}NO$) e (1-butil-1*H*-indol-3-il)(3-metilnaftalen-1-il)metanona ($C_{24}H_{23}NO$), provenientes das quebras 4, 5, 7, 2 e 9, respetivamente, do CBS JWH-210 3-etilnaftil isómero (tabela 21);
- Na embalagem “Magic”: isobutano (C_4H_{10}), isopropano (C_5H_{12}), 1-isopentil-1*H*-indol ($C_{13}H_{17}N$) e 1*H*-indol-3-il(1-naftalenil)metanona ($C_{19}H_{13}NO$), provenientes das quebras 3, 4, 5, e 4, respetivamente, do CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero (tabela 13) e 3-fluoropentano ($C_5H_{11}F$) e 4-metil-1-naftaldeído ($C_{12}H_{10}O$), provenientes das quebras 6 e 7 respetivamente, do CBS MAM2201 N-(3-fluoropentil) (tabela 24);
- Na embalagem “Mandala”: isobutano (C_4H_{10}), isopropano (C_5H_{12}), 1-isopentil-1*H*-indol ($C_{13}H_{17}N$), naftaleno ($C_{10}H_8$) e naftal ($C_{11}H_8O$), provenientes das quebras 3, 4, 5, 5 ou 6 e 4, respetivamente, do CBS JWH-018 N-3-metilbutil isómero (tabela 13) e butano (C_4H_{10}), propano (C_5H_{12}), 6-metil-1-naftaldeído ($C_{12}H_{10}O$) e 1-pentil-1*H*-indol ($C_{13}H_{17}N$), provenientes das quebras 4, 5, 6 e 6, respetivamente, do CBS JWH-122 6-metilnaftil isómero (tabela 16).

A maioria destes compostos, caracterizada como produtos da pirólise dos CBS, é pouco conhecida, não existindo nenhum estudo sobre os efeitos do seu consumo nem a sua toxicidade, sendo, portanto, urgente clarificar se estes produtos da pirólise, de compostos já de si perigosos, são ou não um perigo para o consumidor e com que severidade (20,53,63). Contudo, alguns têm os seus efeitos e a sua toxicidade relatada (tabela 28).

Tabela 28: Origem, efeitos e toxicidade dos possíveis produtos da pirólise identificados após a pirólise.

Composto	Efeito	Toxicidade
1-pentil-1 <i>H</i> -indol	Utilizado como antibiótico, antisséptico e quimoterapêutico.	-
2-metilnaftaleno	Inalação pode causar tosse. Irritante da pele, olhos, membranas mucosas e do trato respiratório superior. Pode causar dores de cabeça, náusea, vômitos, diarreia, anemia, icterícia, euforia, dermatite e distúrbios visuais.	Convulsões e coma
3-fluoropentano	Pode causar irritação na pele, olhos e no trato respiratório.	-
4-metil-1-naftaldeído	Irritante dos olhos, pele e membranas mucosas.	-
6-metil-1-naftaldeído	Irritante dos olhos, pele e do trato respiratório.	-
Butano	Em baixas concentrações não tem sido reportado como causador de efeitos adversos em humanos. É anestésico tanto para humanos como para animais.	Morte inesperada ou efeitos críticos podem ocorrer quando inalado em concentrações elevadas. Casos de efeitos no SNC em indivíduos expostos cronicamente relacionados
Isobutano	Falta de ar e asfixia. Ulceração provocada pelo frio quando evaporada rapidamente ou em contacto com um líquido.	Pode causar danos no sistema cardiovascular, resultando em funções comprometidas e paragem respiratória. Exposição a níveis elevados pode levar à morte.
Isopentano	Tosse, tonturas, sonolência, dores de cabeça, falta de ar, dor de garganta, arritmia cardíaca, pele seca, vermelhidão, dores abdominais, náuseas, vômitos.	-

Naftaleno	Exposição por inalação, ingestão ou contacto dermal está associado a anemia hemolítica, danos nos pulmões, fígado e neurológicos. A exposição aguda pode levar a dores de cabeça, náuseas, vômitos, diarreia, mal-estar, confusão, anemia, icterícia, convulsões e coma	Pode causar carcinomas da laringe ou neoplasma do piloro e ceco. A inalação pode levar a um número elevado de adenomas alveolares/brônquiolares e carcinomas.
Propano	Sensação de queimadura, convulsões, tosse, diarreia, tontura, febre, fraqueza, dor de cabeça, arritmia cardíaca, taquicardia, perda da consciência, náuseas, vômitos, dor e dormência nas pernas e braços, irritação cutânea, respiração lenta e superficial.	Exposição a longo prazo pode levar a acidentes vasculares encefálicos, coma ou morte.

No presente estudo foram apontados (pela simulação das quebras das moléculas) os compostos de elevado perigo para o consumo humano. O 2-metilnaftaleno, o butano, o isobutano, e o propano podem levar à morte ou danos cardiovasculares ou no SNC quando a exposição ocorre em altos níveis. O naftaleno, quando ingerido, tem fortes possibilidades de levar ao aparecimento de carcinomas ou adenomas. Sem determinar as concentrações dos compostos que foram identificados, é impossível prever a severidade do seu efeito no indivíduo. Uma análise com padrões permitiria elucidar as quantidades das drogas, compostos naturais e adicionados e, para além da quantificação dos compostos formados após a pirólise, o recurso a padrões seria também uma forma mais adequada de identificar esses compostos (53).

Após ter sido feita a análise aos compostos formados durante a pirólise de 10 minutos, verificou-se que o pico cromatográfico das drogas continuava presente no cromatograma. Foi então decidido estudar a cinética da combustão dos CBS, permitindo ter uma melhor noção da resistência da molécula às altas temperaturas. Foi escolhida a amostra comercial “Mandala”, uma vez que tinha dois CBS identificados, e foi pirolisada durante 20, 30, 40, 50 e

60 minutos. Comparando com o cromatograma de referência (amostra não pirolisada) e o cromatograma da pirólise de 10 minutos, facilmente se verifica que, logo aos 20 minutos, a quantidade de canabinóides sintético desce drasticamente (figura 24). Aos 50 minutos, os picos são quase inexistentes. Calculando as áreas dos picos, confirma-se a interpretação visual dos gráficos (tabela 25). Deste modo, é possível aferir que a droga é pouco resistente à queima continuada. Portanto, seria de esperar que os efeitos psicoativos fossem escassos se fumados após 20 minutos de queima continuada. Mais estudos, fazendo variar a intensidade da queima (temperatura), seria o ideal para melhor compreender o que acontece na pirólise destes compostos e o que podemos encontrar posteriormente. Também verificar se o efeito dos compostos é alterado com a queima traria informação útil sobre a melhor forma de consumir estes produtos para evitar alguns dos efeitos menos desejados.

Capítulo 5

Pretendeu-se, com este trabalho, identificar compostos voláteis que são inalados quando os produtos comerciais contendo CBS são fumados. Para tal, foi desenvolvido a técnica de “blazing”, que permite reter os voláteis libertados durante a pirólise, para serem analisados posteriormente por GC-MS.

A análise dos rótulos permitiu verificar que, na maioria dos casos, não existe descrição exata do respetivo conteúdo. Dos compostos encontrados originalmente na amostra comercial e que permaneceram depois da pirólise, o ftalato de dioctilo é um dos compostos que contribuem para o risco toxicológico da mistura volátil.

Uma das maiores dificuldades deste trabalho foi a falta de informação acerca da toxicidade dos produtos da pirólise. A maioria não tem o seu perfil toxicológico documentado, logo não é possível saber de que modo ou até que ponto o seu consumo pode ser nocivo para o consumidor. No entanto, dos que estão descritos na literatura, os potenciais efeitos podem levar à morte do indivíduo. Portanto, alguns dos produtos da pirólise são extremamente perigosos para o consumidor, não existindo uma forma de a sua inalação ser evitada.

Técnicas mais precisas precisam de ser aplicadas ao estudo destes produtos comerciais para conseguir realmente criar um perfil toxicológico dos produtos comerciais mais realista. O mapeamento das amostras comerciais para determinar que plantas realmente estão presentes na mistura de ervas com padrões permitiria controlar quer o potencial psicoativo, quer o potencial toxicológico da droga. Utilizar outras técnicas instrumentais de deteção e de separação, tais como o NMR ou o LC, respetivamente, poderá facilitar a identificação de novas substâncias. O uso de padrões permitiria saber a concentração das substâncias psicoativas presentes na amostra (53).

A necessidade de se controlar a produção destes produtos deve ser feita desde o início da síntese até ao embalamento final, pois, claramente, o perigo não se encontra só nos CBS. Tendo em conta que os CBS são um pó branco que é dissolvido e pulverizado sobre a mistura de ervas, nada ou pouco se sabe acerca do que realmente se inala quando se fumam estas misturas. A falta de controlo nas doses presentes nos produtos finais influencia a severidade dos efeitos toxicológicos e aumenta a possibilidade de ocorrerem overdoses inesperadas mesmo em consumidores experientes. Além disso, muitos outros compostos que são adicionados, e outros que aparecem só depois de se começar a fumar os produtos comerciais, podem também ser nocivos para a saúde humana. A inalação dos produtos comerciais

pirolisados poderá comprometer a saúde do utilizador. Mesmo com o aviso nas embalagens de que as substâncias contidas são impróprias para consumo, a falta de informação no rótulo do que realmente compõe o produto comercial de CBS, assim como do controlo na produção não elimina a responsabilidade de quem os produz. Até porque quem os compra pensa estar a comprar CBS, não toda a panóplia de compostos altamente nocivos, cada um acrescentando um pouco no leque de efeitos tóxicos que compõem o produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência. Relatório sobre os mercados de droga na UE - Síntese Estratégica. 2016.
2. Baumeister D, Tojo LM, Tracy DK. Legal highs: staying on top of the flood of novel psychoactive substances. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2015;5(2):97–132.
3. Zawilska JB. “Legal Highs” – An Emerging Epidemic of Novel Psychoactive Substances. *Int Rev Neurobiol*. 2015;120:273–300.
4. Znaleziona J, Ginterova P, Petr J, Ondra P, Valka I, Sevcik J, et al. Determination and identification of synthetic cannabinoids and their metabolites in different matrices by modern analytical techniques - a review. *Anal Chim Acta*. 2015;874:11–25.
5. Corazza O, Demetrovics Z, van den Brink W, Schifano F. “Legal highs” an inappropriate term for “Novel Psychoactive Drugs” in drug prevention and scientific debate. *Int J Drug Policy*. 2013;24(1):82–3.
6. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº54/2013 de 17 de Abril, Diário da República 1ª série – Nº75. 2013;2250–7.
7. Ministério da Saúde. Portaria n.º 154/2013, de 17 de Abril. 2013;2254–7.
8. Kersten BP, McLaughlin ME. Toxicology and Management of Novel Psychoactive Drugs. *J Pharm Pract*. 2015;28(1):50–65.
9. Ben Amar M. Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. *J Ethnopharmacol*. 2006;105:1–25.
10. van Amsterdam J, Brunt T, van den Brink W. The adverse health effects of synthetic cannabinoids with emphasis on psychosis-like effects. *J Psychopharmacol*. 2015;29(3):254–63.
11. Debruyne D, Le Boisselier R. Emerging drugs of abuse: current perspectives on synthetic cannabinoids. *Subst Abuse Rehabil*. 2015;6:113–29.
12. Guzmán M. Cannabinoids: Potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer*. 1st ed. 2003;3(10):745–55.

13. Brabanter N De, Deventer K, Stove V, Eenoo P Van. Synthetic cannabinoids : general considerations. *Proceeding Belgian R Acad Med*. 2013;2:209–25.
14. Adamowicz P, Zuba D, Sekuła K. Analysis of UR-144 and its pyrolysis product in blood and their metabolites in urine. *Forensic Sci Int*. 2013;233(1–3):320–7.
15. Honorio JC, Kawamura RL, Galvão MMR, Herrerias T, Cabrera ER. Legal highs: a public health problem. *Cad Saude Publica*. 2014;30(2):228–30.
16. Aoun EG, Christopher PP, Ingraham JW. Emerging drugs of abuse: clinical and legal considerations. *R I Med J*. 2014;97(6):41–5.
17. Musselman ME, Hampton JP. “Not for human consumption”: A review of emerging designer drugs. *Pharmacotherapy*. 2014;34(7):745–57.
18. Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;39(2):234–43.
19. Castaneto MS, Gorelick DA, Desrosiers NA, Hartman RL, Pirard S, Huestis MA. Synthetic cannabinoids: Epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug Alcohol Depend*. 2014;144:12–41.
20. Fattore L. Synthetic cannabinoids – further evidence supporting the relationship between cannabinoids and psychosis. *Biol Psychiatry*. 2016;79(7):539–548.
21. Zawilska JB, Andrzejczak D. Next generation of novel psychoactive substances on the horizon—a complex problem to face. *Drug Alcohol Depend*. 2015;157:1–17.
22. Srisung W, Jamal F, Prabhakar S. Synthetic cannabinoids and acute kidney injury. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2015;28(4):475–7.
23. Zawilska JB, Wojcieszak J. Spice/K2 drugs – more than innocent substitutes for marijuana. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014;17(3):509–25.
24. Langer N, Lindigkeit R, Schiebel HM, Ernst L, Beuerle T. Identification and quantification of synthetic cannabinoids in “spice-like” herbal mixtures: A snapshot of the German situation in the autumn of 2012. *Drug Test Anal*. 2014;6(1–2):59–71.
25. Dresen S, Ferreirós N, Pütz M, Westphal F, Zimmermann R, Auwärter V. Monitoring of

- herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds. *J Mass Spectrom.* 2010;45(10):1186–94.
26. Salomone A, Gerace E, D'Urso F, Di Corcia D, Vincenti M. Simultaneous analysis of several synthetic cannabinoids, THC, CBD and CBN, in hair by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Method validation and application to real samples. *J Mass Spectrom.* 2012;47(5):604–10.
27. Su M, Seely KA, Moran JH, Hoffman RS. Metabolism of Classical Cannabinoids and the Synthetic Cannabinoid JWH-018. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;9(6):562–564.
28. Fernández-Ruiz J, Moro MA, Martínez-Orgado J. Cannabinoids in Neurodegenerative Disorders and Stroke/Brain Trauma: From Preclinical Models to Clinical Applications. *Neurotherapeutics.* 2015;
29. Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Ogata J, Goda Y. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Sci Int.* 2010;198(1–3):31–8.
30. Zuba D, Byrska B, Maclow M. Comparison of “herbal highs” composition. *Anal Bioanal Chem.* 2011;400(1):119–26.
31. Ginsburg BC, McMahon LR, Sanchez JJ, Javors MA. Purity of Synthetic Cannabinoids Sold Online for Recreational Use. *J Anal Toxicol.* 2012;36:66–8.
32. Ogata J, Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Goda Y. DNA sequence analyses of blended herbal products including synthetic cannabinoids as designer drugs. *Forensic Sci Int.* 2013;227(1–3):33–41.
33. Lindigkeit R, Boehme A, Eiserloh I, Luebbecke M, Wiggermann M, Ernst L, et al. Spice: A never ending story? *Forensic Sci Int.* 2009;191:58–63.
34. Müller HH, Kornhuber J, Sperling W. The behavioral profile of spice and synthetic cannabinoids in humans. *Brain Res Bull.* 2015;1–5.
35. Gurney SMR, Scott KS, Kacinko SL, Presley BC, Logan BK. Pharmacology, toxicology, and adverse effects of synthetic cannabinoid drugs. *Forensic Sci Rev.* 2014;26(1):54–76.

36. Favretto D, Pascali JP, Tagliaro F. New challenges and innovation in forensic toxicology: focus on the “ New Psychoactive Substances.” J Chromatogr A. 2013;1287:84–95.
37. Spaderna M, Addy PH, D’Souza DC. Spicing thing up : Synthetic cannabinoids. Psychopharmacol. 2014;228(4):525–40.
38. Di Marzo V, Petrocellis L De. Plant, synthetic, and endogenous cannabinoids in medicine. Annu Rev Med. 2006;57:553–74.
39. Cottencin O, Rolland B, Karila L. New Designer Drugs (Synthetic Cannabinoids and Synthetic Cathinones): Review of Literature. Curr Pharm Des. 2014;20(25):4106–11.
40. Dunne FJ, Jaffar K, Hashmi S. Legal Highs - Not so new and still growing in popularity. Br J Med Pract. 2015;8(1):a801.
41. Arnold C. The new danger of synthetic drugs. Lancet. 2013;382(9886):15–6.
42. Müller HH, Kornhuber J, Sperling W. The behavioral profile of spice and synthetic cannabinoids in humans. Brain Res Bull. 2015;
43. Castaneto MS, Wohlfarth A, Desrosiers NA, Hartman RL, Gorelick DA, Huestis MA. Synthetic cannabinoids pharmacokinetics and detection methods in biological matrices. Drug Metab Rev. 2015;47(2):124–74.
44. Namera A, Kawamura M, Nakamoto A, Saito T, Nagao M. Comprehensive review of the detection methods for synthetic cannabinoids and cathinones. Forensic Toxicol. 2015;33(2):175–94.
45. ElSohly MA, Gul W, Wanas AS, Radwan MM. Synthetic cannabinoids: Analysis and metabolites. Life Sci. 2014;97(1):78–90.
46. Sobolevsky T, Prasolov I, Rodchenkov G. Study on the phase I metabolism of novel synthetic cannabinoids, APICA and its fluorinated analogue. Drug Test Anal. 2015;7(2):131–42.
47. Wu AH, Gerona R, Armenian P, French D, Petrie M, Lynch KL. Role of liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry (LC-HR/MS) in clinical toxicology. Clin Toxicol. 2012;50(8):733–42.

48. Angerer V, Bisel P, Moosmann B, Westphal F, Auwärter V. Separation and structural characterization of the new synthetic cannabinoid JWH-018 cyclohexyl methyl derivative “NE-CHMIMO” using flash chromatography, GC-MS, IR and NMR spectroscopy. *Forensic Sci Int.* 2016;1–6.
49. Abdel-Hay KM, De Ruiter J, Smith F, Alsegiani AS, Thaxton-Weissenfluh A, Clark CR. GC–MS differentiation of the six regioisomeric dimethoxybenzoyl-1-pentylindoles: Isomeric cannabinoid substances. *J Pharm Biomed Anal.* 2016;125:360–8.
50. Marino MA, Voyer B, Cody RB, Dane AJ, Veltri M, Huang L. Rapid Identification of Synthetic Cannabinoids in Herbal Incenses with DART-MS and NMR. *J Forensic Sci.* 2016;61:82–91.
51. Risoluti R, Materazzi S, Gregori A, Ripani L. Early detection of emerging street drugs by near infrared spectroscopy and chemometrics. *Talanta.* 2016;153:407–13.
52. Mikaia A, V EW, Zaikin V, Zhu D, Milman B, Babushok V, et al. NIST Standard Reference Database 1A. National Institute of Standards and Technology; p. 1–49.
53. Bell S, Nida C. Pyrolysis of drugs of abuse: a comprehensive review. *Drug Test Anal.* 2015;7(2 November 2014):445–56.
54. Alam MN, Islam MR, Biozid MS, Chowdury MIA, Mazumdar MMU, Islam MA, et al. Effects of Methanolic Extract of *Nymphaea capensis* Leaves on the Sedation of Mice and Cytotoxicity of Brine Shrimp. *Adv Biol Res (Rennes).* 2016;10(February).
55. Tan L, Chin SF, Miner VW, Dong L, Gupta S, Fields SM. Determination of apomorphine freebase in sublingual tablets by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Pharm Biomed Anal.* 2016;129:378–82.
56. Encyclopedia TA, Abuse D. *The A-Z Encyclopedia of Alcohol and Drug Abuse.* 2002. 684 p.
57. Nsuala BN, Enslin G, Viljoen A. “Wild cannabis”: A review of the traditional use and phytochemistry of *Leonotis leonurus*. *J Ethnopharmacol.* 2015;174:520–39.
58. Wu H, Fronczek FR, Ferreira D, Burandt CL, Zjawiony JK. Labdane diterpenoids from *leonurus sibiricus*. *J Nat Prod.* 2011;74(4):831–6.

59. Zhao J, Pawar RS, Ali Z, Khan IA. Phytochemical investigation of *Turnera diffusa*. *J Nat Prod*. 2007;70(2):289–92.
60. Koch HM, Preuss R, Angerer J. Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure – an update and latest results 1. 2006;29:155–65.
61. Fierens T, Servaes K, Holderbeke M Van, Geerts L, Henauw S De, Sioen I, et al. Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(7):2575–83.
62. Methyl stearate [Internet]. Chemical book. 2016. Available from: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb6409834.htm
63. Kavanagh P, Grigoryev A, Savchuk S, Mikhura I, Formanovsky A. UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products. *Drug Test Anal*. 2013;5(8):683–92.